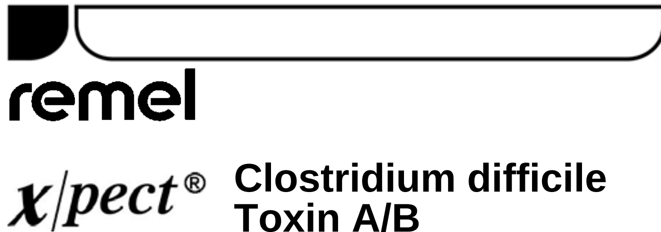


x|pect® Clostridium difficile Toxin A/B

INTENDED USE

Remel Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test kit is a rapid *in vitro* immunochromatographic test for the direct, qualitative detection of *Clostridium difficile* Toxin A and/or B in human fecal specimens from patients suspected of having *Clostridium difficile*-associated disease (CDAD). The test is intended for use as an aid in diagnosis of CDAD. The test can also be used for confirmation of toxigenic *C. difficile* from Brain Heart Infusion (BHI) broth culture.

SUMMARY AND EXPLANATION

C. difficile was first described in 1935, but it was not until 1977 that links were made between the organism and disease. *C. difficile* is a toxin-producing, spore-forming anaerobic gram-positive bacillus. The clinical presentation of *C. difficile* infection includes, in increasing order of severity, asymptomatic carriers, antibiotic-associated colitis, pseudomembranous colitis (PMC), and fulminant colitis.[1] A reduction of the normal microbial flora in the colon, usually caused by antibiotic therapy, allows overgrowth of *C. difficile*. Symptoms of antibiotic-associated colitis usually begin four to ten days after antibiotic treatment has begun.

Most pathogenic strains of *C. difficile* produce two toxins, Toxin A (enterotoxin) and Toxin B (cytotoxin), which are the main virulence factors for the organism. There appears to be a cascade of events, which result in the expression of the activity of these toxins. Toxin A is mildly cytopathic but induces large fluid shifts and mucosal inflammation. Toxin B is intensely cytopathic but its role in the disease process is not clearly understood. Variant strains which are Toxin A-negative, Toxin B-positive are known to exist, are fully pathogenic, and capable of producing the full spectrum of disease. The prevalence of these variant strains varies widely by institution and geographic location.[2-7]

C. difficile-associated disease (CDAD) primarily occurs in hospitalized patients.[8,9] Individuals with CDAD shed spores in the stool, which can survive for as long as five months in the environment. Clinical and pathological features of CDAD are not easily distinguished from those of other gastrointestinal diseases, including ulcerative colitis, chronic inflammatory bowel disease, and Crohn's disease. Infection with toxigenic *C. difficile* is a potentially life-threatening disease process; however, when properly treated, patient mortality rates are low. Thus, rapid diagnosis, allowing clinicians to initiate appropriate therapy and implement adequate measures to control nosocomial spread, is important.

PRINCIPLE

The Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test is a qualitative immunochromatographic assay that detects *C. difficile* Toxin A and Toxin B in stool specimens or cultures of toxigenic *C. difficile*. In performing the test, a specimen is first diluted with Specimen Diluent to help solubilize the toxins. A portion of the diluted sample is then mixed with a volume of Conjugate 1 containing antibodies to Toxin A and Toxin B coupled to colored microparticles, plus a volume of Conjugate 2 containing biotinylated antibodies to Toxin A and Toxin B. A volume of this mixture is transferred to a test device having immobilized streptavidin as a test line and goat anti-immunoglobulin antibody as a control line. Immunocomplexes of toxin and conjugated antibodies form a visible band as they flow across the test line. Excess colored particle conjugates form a visible band at the control line to document that the test is functioning properly.

STORAGE

Store test devices in sealed foil pouches at 2-30°C (room temperature or refrigerated). Store all kit reagent bottles and vials at 2-8°C. Do not freeze or overheat. Allow components to equilibrate to room temperature before use. Mix bottled reagents gently prior to use. Return the unused reagents to the refrigerator after use.

PRECAUTIONS

1. For *In Vitro* Diagnostic Use.
2. Standard precautions should be taken against the dangers of biological hazards by properly sterilizing specimens, containers, and test devices after use. Consult appropriate references when necessary.[10]
3. Directions should be read and followed carefully.
4. Reagents are provided at the necessary working strength and are to be dispensed directly from the dropper bottles. Do not dilute reagents.
5. Do not interchange reagents between kits of different lots.
6. Do not use reagents beyond the printed expiration dates.
7. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay.

SPECIMEN COLLECTION, STORAGE, AND TRANSPORT

Specimens should be collected in clean, airtight, leak-proof containers.

- Fresh, untreated stool specimens should be stored at 2-8°C and tested within 72 hours of collection. If fresh specimens cannot be tested within 72 hours, they should be frozen at -20°C or below in a non-defrosting freezer and tested within 2 months of collection. Avoid multiple freeze-thaw cycles.
- Fresh specimens diluted in the Sample Diluent provided in the kit can be stored refrigerated for up to 24 hours prior to testing.
- Stool specimens collected in modified Cary Blair Transport Medium with indicator (or equivalent) may be stored refrigerated (2-8°C) or stored at room temperature (20-25°C) and should be tested within 5 days of collection.
- Stool specimens that have been concentrated or collected in Formalin, SAF, or PVA are not suitable for use with this test.

REAGENTS AND MATERIALS SUPPLIED — 20 / 40 Tests

1. **Test Devices** (20 / 40): Each foil pouch contains one single-use test device with desiccant; membrane is striped with capture reagents
2. **Conjugate Reagent 1** (3.0 ml x 1) / (3.0 ml x 2): Blue-black microparticles coated with mouse anti-toxin A and rabbit anti-Toxin B
3. **Conjugate Reagent 2** (3.0 ml x 1) / (3.0 ml x 2): Biotinylated goat anti-Toxin A and rabbit anti-Toxin B
4. **Specimen Diluent** (12.0 ml x 1) / (12.0 ml x 2): Buffered solution with 0.03% ProClin™ 300
5. **Positive Control** (2.0 ml x 1) / (2.0 ml x 2): Culture supernatant containing *C. difficile* Toxin A and B with preservative
6. **Negative Control** (2.0 ml x 1) / (2.0 ml x 2): Buffered solution with preservative
7. **Disposable Transfer Pipettes** (40 / 80): Pipettes with marked graduations at 0.1 ml increments
8. **Dilution Tubes** (40 / 80): Tubes for specimen preparation with marked 0.5 ml volume
9. **Wooden Applicator Sticks** (20 / 40)
10. **Instructions for Use** (1) (IFU)

MATERIALS REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

(1) Stool specimen collection container(s), and (2) Timer.

Optional materials not provided:
(1) Specimen transport media, (2) BHI Broth, and (3) Test tube rack.

PROCEDURE

1. Allow kit components and stool specimens to come to room temperature before use.
2. Mix stool specimens **thoroughly** prior to testing (regardless of consistency).
3. Remove the test device from the foil pouch when ready to perform the test and place it on a flat surface.
4. Label the device (and dilution tubes) with patient or control identification.

Sample Preparation

Fresh (unpreserved) Stool Specimens:

1. Add Specimen Diluent up to the line marked on the dilution tube (0.5 ml).
    a. For solid stool specimens, use a wooden applicator stick and sample from separate areas of the specimen. Transfer a 0.2 g (6-8 mm diameter) portion of stool to the dilution tube.
    b. For semi-solid or liquid stool specimens, use a transfer pipette to transfer 0.2 ml (second graduated mark from the tip) of specimen to the dilution tube.
2. Mix thoroughly and allow large particulates to settle.
3. Use a transfer pipette to dispense 0.1 ml (first molded graduated mark from the tip) of this preparation into another dilution tube.

Stool Specimens in Cary Blair:

1. Specimens collected in modified Cary Blair transport media with indicator are used without further dilution.
2. Mix specimen thoroughly prior to testing.
3. Use a transfer pipette to dispense 0.1 ml (first molded graduated mark from the tip) of the specimen into a diluton tube.

BHI Broth Culture:

1. Use a transfer pipette to dispense 0.1 ml (first molded graduated mark from the tip) of a 72-hour BHI broth culture with suspected *C. difficile* into a dilution tube.

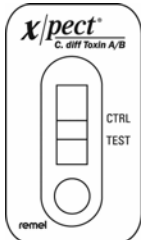
Test Procedure

1. Add 5 drops of Conjugate Reagent 1 to the dilution tube containing the diluted specimen.
2. Add 5 drops of Conjugate Reagent 2 to the dilution tube containing the diluted specimen.
3. Mix the contents of the tube thoroughly.
4. Use a transfer pipette to dispense 0.2 ml (second graduated mark from the tip) of sample into the circular sample well of the test device.
5. Read and record the test results visually after 20 minutes according to the INTERPRETATION section. (Strong positive results may be apparent sooner than 20 minutes.) Results are invalid beyond 20 minutes.

INTERPRETATION OF THE TEST

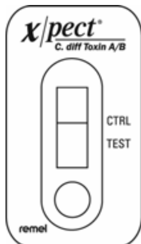
Positive Result (Toxin A and/or B present):

A positive test is indicated by two black-colored lines of any intensity; one in the TEST region and one in the control (CTRL) region. A positive test indicates the presence of *C. difficile* Toxin A and/or Toxin B in the sample.



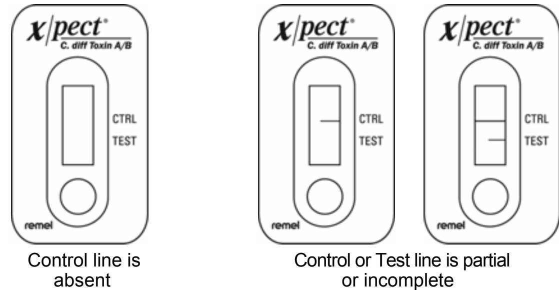
Negative Result (Toxin A and/or B not detected):

A negative test is indicated by only one black-colored line in the control (CTRL) region. A negative test indicates that *C. difficile* Toxin A and/or Toxin B are absent or below the detection limit of the test.



Invalid Result:

An invalid result occurs when the TEST line is partial or incomplete, or the control (CTRL) line is absent or incomplete at 20 minutes.



Control line is absent

Control or Test line is partial or incomplete

If invalid results occur due to restricted flow of the sample along the membrane, the specimen should be re-tested as follows:

Re-test Specimen Preparation

Further dilute the specimen as follows:

1. Combine in a clean dilution tube:
    a. 4 drops of Specimen Diluent, and
    b. 0.1 ml (first molded graduated mark from the tip) of specimen from the initial specimen preparation in Specimen Diluent (without reagents added).
2. Mix the preparation by aspirating with the transfer pipette.
3. Use 0.1 ml of this diluted specimen preparation and repeat the Test Procedure.

QUALITY CONTROL

Internal: A procedural control is included in the test. The appearance of a control line in the CTRL region verifies that an intact conjugate has been added to the device, that the control line antibody is functionally active, and that adequate capillary flow has occurred. A clear background in the results area is considered an internal negative control. If the test has been performed correctly and reagents are working properly, the background will clear to give a discernible result.

External: The Positive and Negative Quality Controls provided with the kit should be run with each shipment and new kit lot number received. The Positive Control is used to verify reactivity of the reagents associated with the assay and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. Each laboratory should follow their state and local requirements. To use, add 0.1 ml (5 drops) of the control to a dilution tube and process in accordance with Test Procedure outlined above (do not dilute controls with specimen diluent). If aberrant quality control results are noted, patient results should not be reported.

LIMITATIONS

1. A positive test does not define the presence of disease. The test detects the presence of Toxin A and/or Toxin B in fecal specimens. Results should be used in conjunction with other clinical findings to establish a diagnosis.
2. As with all *in vitro* diagnostic tests, a negative test result does not exclude the possibility of the presence of *C. difficile* Toxin A or Toxin B. This may occur when the toxin level in the sample is below the detection level of the test. The level of toxin has not been shown to correlate with either the presence or severity of disease. Test results should be interpreted by a physician in light of other laboratory results and clinical findings.
3. *Clostridium sordellii* is not a common inhabitant of the human intestine but does produce a toxin (HT) that has biological, physiochemical, and immunochemical properties similar to *C difficile* Toxin A. This similarity may cause cross-reactivity in any diagnostic test that detects *C. difficile* Toxin A and/or B.[11]

4. Proper specimen collection and processing are essential to achieve optimal performance of the test. See Specimen Collection, Storage and Transport section.
5. The performance characteristics of this test have not been fully evaluated in pediatric populations.
6. A high dose Hook Effect was not observed during the BHI broth culture study in which *C. difficile* was evaluated after growing in pure culture for 72-hours.

EXPECTED VALUES

Community-acquired CDAD cases are recognized, but the incidence is low (<1 case per 10,000 antibiotic prescriptions). This may be because diagnostic testing is not performed often enough in outpatient settings to detect CDAD. *C. difficile* colitis occurs at a much higher frequency in patients who are hospitalized and is the fourth most common nosocomial disease reported to the Centers for Disease Control and Prevention. *C. difficile* is responsible for 20-30% of antibiotic-associated diarrhea and more than 90% of pseudomembranous colitis. The incidence rate of nosocomial CDAD may vary with hospital populations and is influenced by the presence of predisposing factors, such as increased patient age, type and duration of antimicrobial therapy, severity of underlying illness(es), and length of hospital stay. *C. difficile* is found in 3-5% of healthy adults and up to 50% of infants and young adults that asymptomatically carry both the bacteria and its toxins.[12] An overall prevalence rate of 16% was observed when the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B was evaluated in a prospective study conducted at four independent laboratories in the United States.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical Accuracy:

The performance of Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B was evaluated at four geographically diverse regions of the United States. A total of eight hundred fifteen specimens were tested with the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test and compared to results obtained from the cytotoxin assay (CTA).

Overall		CTA Results	
		+	-
Xpect® Results	+	132	25
	-	21	637
	TOTAL	153	662

Sensitivity: 86.3% (95% CI = 79.8-91.3%)
Specificity: 96.2% (95% CI = 94.5-97.5%)
Positive Predictive Value: 84.1% (95% CI = 77.4-89.4%)
Negative Predictive Value: 96.8% (95% CI = 95.2-98.0%)
% Correlation: 94.4% (95% CI = 92.5-95.8%)

Note: CI = Confidence Interval

Discordant results were further investigated by toxigenic culture and microwell enzyme immunoassay that detects both Toxin A and B. Four of 25 specimens that were cytotoxin negative and Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B positive on initial testing were positive by toxigenic culture and enzyme immunoassay. Ten of 21 (47.6%) specimens that were CTA positive and Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B negative on initial testing were negative by toxigenic culture and microwell enzyme immunoassay.

Performance Compared to Commercially Available Devices:

The Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test was also compared to two commercially available products. Each of the four clinical trial sites tested a chromatographic membrane assay that detects Toxin A only (Predicate Device), the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test, and cytotoxin assay (CTA) for each sample. In addition, one clinical trial site tested a microwell enzyme immunoassay for the detection of both Toxin A and B for each sample. The results presented below are calculated using CTA as the reference.

Performance of Devices Compared to CTA:

	n = 815		n = 267	
	Xpect® C. difficile Toxin A/B	Predicate Device	Xpect® C. difficile Toxin A/B	EIA
Sensitivity	86.3%	62.7%	91.0%	80.6%
Specificity	96.2%	98.8%	98.0%	97.5%

BHI Broth Culture Performance:

An in-house study was conducted using twenty-one known reference strains and thirty-six suspect *C. difficile* isolates from stool specimens. BHI broth cultures were tested with Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B following 72-hours incubation. Under these conditions, the BHI broth culture of *Clostridium sordellii* ATCC® 9714 produced a positive reaction. There was 94.7% (54/57) agreement with expected values.

Analytical Sensitivity:

The analytical sensitivity was evaluated using purified *C. difficile* Toxin A and Toxin B. The Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test detects Toxin A at levels of ≥ 6.25 ng/ml (0.12 ng/test) and Toxin B at levels of ≥ 40.0 ng/ml (0.76 ng/test).

Cross-Reactivity:

Fifty-four microorganisms were evaluated with Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B. No cross-reactivity was observed. Bacteria and yeast isolates were tested at 10^8 colony-forming units per ml concentration. Viral isolates were tested at concentrations of 10^4 to 10^5 $TCID_{50}$ (tissue culture infectious dose) per ml concentration. The following organisms were tested in the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test:

Aeromonas hydrophila
Bacillus cereus
Bacillus subtilis
Bacteroides fragilis
Campylobacter coli
Campylobacter fetus subsp. *fetus*
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*
Campylobacter lari
Candida albicans
Clostridium botulinum (toxin 20 µg/ml)
Clostridium beijerinickii
Clostridium difficile (non-toxigenic)
Clostridium haemolyticum
Clostridium histolyticum
Clostridium innocuum
Clostridium novyi
Clostridium perfringens
Clostridium septicum
Clostridium sordellii
Clostridium sporogenes
Clostridium subterminale
Clostridium tetani
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae
Peptostreptococcus anaerobius
Porphyromonas asaccharolytica
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella Typhimurium
Serratia liquefaciens
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus (Cowan)
Staphylococcus epidermidis
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus
Yersinia enterocolitica
Giardia intestinalis
Entamoeba histolytica
Adenovirus type 2
Adenovirus type 40
Adenovirus type 41
Coxsackievirus B4
Cytomegalovirus
Echovirus (type 22)
Enterovirus (type 69)
Rotavirus

Interfering Substances:

The following substances were tested with the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test and no interference was observed in the assay for any substance tested at the indicated levels: blood, mucous, fecal fat, Pepto-Bismol® (10%v/v), Imodium® AD (10%v/v), Kaopectate® (10%v/v), Castoria® (10%v/v), vancomycin (12.5 mg/ml), metronidazole (12.5 mg/ml), and barium sulfate (12.5 mg/ml).

Reproducibility:

Reproducibility testing was conducted at three sites, including one in-house site, on four separate days with six blinded samples. The samples consisted of known positive and negative stool specimens. The samples produced the expected results with the Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test 98.6% (71/72) of the time.

BIBLIOGRAPHY

1. Gerding, D.N., S. Johnson, L.R. Peterson, M.E. Mulligan, and J. Silva, Jr. 1995. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 16:459-477.
2. Limaye, A.P., D.K. Turgeon, B.T. Cookson, and T.R. Fritsche. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:1696-1697.
3. Alfa, M.J., A. Kabani, D. Lyerly, S. Moncrief, L.M. Neville, A. Al-Barrak, G.K.H. Harding, B. Dyck, K. Olekson, and J.M. Embil. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:2706-2714.
4. Barbut, F., V. Lalande, B. Burghoffer, H.V. Thien, E. Grimprel, and J. Petit. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:2079-2083.
5. Johnson, S., S.P. Sambol, J.S. Brazier, M. Delmée, V. Avesani, M.M. Merrigan, and D.N. Gerding. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:1543-1547.
6. Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. Kim, Y. Chong, and E.B. Wasito. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:2178-2182.
7. Johnson, S., S.A. Kent, K.J. O'Leary, M.M. Merrigan, S.P. Sambol, L.R. Peterson, and D.N. Gerding. 2001. Ann. Intern. Med. 135:434-438.
8. Wilkins, T.D. and D.M. Lyerly. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:531-534.
9. Fedorka, D.P. 2002. Clin. Microbiol. Newsletter. 24:76-79.
10. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
11. Lyerly, D.M., H.C. Krivan, and T.D. Wilkins. 1988. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
12. Mandell, G.L., J.E. Bennett, and R. Dolin. 2000. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone. New York, NY.

PACKAGING

REF R24650, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B .... 20 Tests/Kit
REF R24640, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B .... 40 Tests/Kit

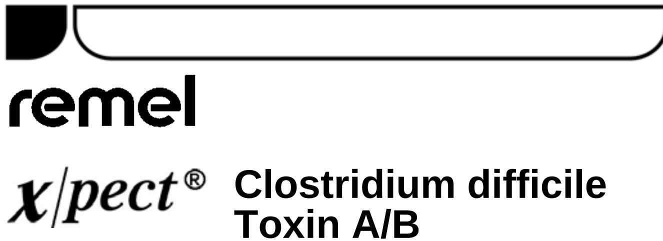
Symbol Legend

REF	Catalog Number
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device
LAB	For Laboratory Use
	Consult Instructions for Use (IFU)
	Temperature Limitation (Storage Temp.)
LOT	Batch Code (Lot Number)
	Use By (Expiration Date)
EC REP	European Authorized Representative



IFU 24650, Revised August 27, 2007 Printed in U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
General Information: (800) 255-6730 Technical Service: (800) 447-3641 Order Entry: (800) 447-3635
Local/International Phone: (913) 888-0939 International Fax: (913) 895-4128
Website: www.remel.com Email: remel@remel.com



xpect® Clostridium difficile Toxin A/B

ANWENDUNGSBEREICH

Das Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B testkit von Remel ist ein schneller *in-vitro* immunchromatografischer Test für den direkten, qualitativen Nachweis des *Clostridium difficile* Toxin A und/oder B in humanen Stuhlproben von Patienten, von denen angenommen wird, dass sie unter einer *Clostridium difficile*-assoziierten Krankheit (CDAD) leiden. Der Test dient als Hilfsmittel zur Diagnose von CDAD. Der Test kann auch verwendet werden, um die Toxigenität von *C. difficile* in BHI- (Brain Heart Infusion) Bouillonkultur zu bestätigen.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG

Clostridium difficile wurde 1935 zum ersten Mal beschrieben, die Zusammenhänge zwischen Organismus und Krankheit wurden erstmals 1977 aufgedeckt. *C. difficile* ist eine toxinproduzierende, Sporen bildende, anaerobe gram-positive Bakterie. Die klinische Darstellung einer *C. difficile*-Infektion umfasst, in aufsteigender Reihenfolge an Schweregrad, asymptomatische Carrier, Antibiotika-assoziierte Kolitis, pseudomembrane Kolitis (PMC) und fulminante Kolitis.[1] Eine in der Regel durch eine Antibiotikabehandlung ausgelöste Reduzierung der normalen mikrobischen Flora ermöglicht eine Wucherung von *C. difficile*. Die Symptome der Antibiotika-assoziierten Kolitis setzen in der Regel vier bis zehn Tage nach Start der Antibiotikabehandlung ein.

Die meisten pathogenen Stämme von *C. difficile* produzieren zwei Toxine, Toxin A (Enterotoxin) und Toxin B (Zytotoxin), bei denen es sich um die primären Virulenzfaktoren für den Organismus handelt. Diese scheinen eine Ereigniskaskade zu sein, die in der Expression der Aktivität dieser Toxine resultiert. Toxin A ist mild zytopathisch, führt aber zu großen Flüssigkeitsverschiebungen und zu Schleimhautentzündungen. Toxin B ist ein potentes Zytotoxin, aber seine Rolle im Krankheitsprozess ist derzeit noch nicht vollständig geklärt. Variante Stämme, die bekanntermaßen Toxin A-negativ und Toxin B-positiv sind, sind vollständig pathogen und in der Lage das volle Spektrum der Krankheit hervorzurufen. Die Prävalenz dieser varianten Isoformen variiert je nach Einrichtung und geografischem Standort.[2-7]

Die *C. difficile*-assoziierte Krankheit (CDAD) tritt primär bei hospitalisierten Patienten auf.[8,9] Personen mit CDAD geben Sporen im Stuhl ab, die bis zu fünf Monate in der Umgebung überleben können. Die klinische und pathologischen Merkmale von CDAD sind von denen anderer gastrointestinaler Krankheiten, z. B. Colitis ulcerosa, chronische Entzündung des Dickdarms und Crohn's-Krankheit, nicht einfach zu unterscheiden. Eine Infektion mit toxigenem *C. difficile* ist ein potenziell lebensbedrohlicher Krankheitsprozess, bei entsprechender Behandlung sind die Sterblichkeitsraten jedoch niedrig. Damit der Arzt die geeignete Therapie initiieren und die für die Kontrolle der nosokomialen Verbreitung erforderlichen Maßnahmen treffen kann, ist eine schnelle Diagnose enorm wichtig.

TESTPRINZIP

Der Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test ist ein qualitativer immunochromatografischer Assay zum Nachweis von *C. difficile* Toxin A und Toxin B in Stuhlproben oder Kulturen von toxigenem *C. difficile*. Für den Test wird eine Probe zunächst mit Probenverdünner verdünnt, um die Auflösung der Toxine zu unterstützen. Anschließend wird ein Teil der verdünnten Probe mit einer bestimmten Menge Konjugat 1 gemischt, das an farbige Mikropartikel gebundene Antikörper für Toxin A und Toxin B enthält, sowie ein Teil mit einer bestimmten Menge Konjugat 2, das biotinylierte Antikörper für Toxin A und Toxin B enthält. Anschließend wird ein Teil dieser Mischung in ein Testgerät gegeben, wobei immobilisiertes Streptavidin als Testlinie und Ziege-Anti-Immunoglobulin-Antikörper als Kontrolllinie verwendet werden. Die Immunkomplexe des Toxins und die konjugierten Antikörper bilden ein sichtbares Band, während sie über die Testlinie fließen. Überschüssige Farbpartikelkonjugate bilden an der Kontrolllinie ein sichtbares Band und dokumentieren so, dass der Test ordnungsgemäß funktioniert.

LAGERUNG

Testmaterialien in versiegelten Verpackungen bei 2-30°C lagern (Raumtemperatur oder gekühlt). Alle Kit-Reagenzienflaschen bei 2-8°C lagern. Nicht einfrieren oder überhitzen. Die Komponenten vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Vor jeder Verwendung vorsichtig schütteln. Die unbenutzten Reagenzien nach der Verwendung wieder in den Kühlschrank stellen.

SICHERHEITSMASSNAHMEN

1. Für die Verwendung in der *In-Vitro*-Diagnostik.
2. Es sind Vorsichtmaßnahmen gegen die von biologischen Materialien ausgehenden Verfahren zu ergreifen, indem Proben, Container und Testgeräte nach Gebrauch ordnungsgemäß sterilisiert werden. Weitere Informationen sind bei Bedarf der entsprechenden Dokumentation zu entnehmen.[10]
3. Die gegebenen Anweisungen sollten aufmerksam gelesen und genau befolgt warden.
4. Reagenzien werden in der erforderlichen Arbeitskonzentration geliefert und sind direkt aus den Tropferflaschen abzugeben. Nicht verdünnen.
5. Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargen dürfen nicht vertauscht werden.
6. Die Reagenzien nicht nach dem aufgedruckten Verfallsdatum verwenden.
7. Mikrobenkontaminierung von Reagenzien kann die Testgenauigkeit vermindern.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND TRANSPORT

Die Proben sollten in sauberen, luftdicht verschlossenen und auslaufsicheren Plastikbehältern gesammelt werden.

- Die frischen, unbehandelten Stuhlproben sollten bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme getestet werden. Wenn frische Proben nicht innerhalb von 72 Stunden getestet werden können, müssen sie bei -20°C eingefroren und innerhalb von 2 Monaten getestet werden. Mehrere Gefrier-Auftau-Zyklen vermeiden.
- Frische Proben, die in dem im Kit enthaltenen Probenverdünner verdünnt wurden, können vor dem Testen gekühlt bis zu 24 Stunden aufbewahrt werden.
- Stuhlproben, die in modifizierten Cary-Blair-Transportmedien mit Indikator (oder vergleichbaren Medien) gesammelt wurden, können gekühlt (2-8°C) oder bei Zimmertemperatur (20-25°C) gelagert und müssen innerhalb von 5 Tagen nach Entnahme getestet werden.
- Stuhlproben, die in Formalin, SAF oder PVA konzentriert oder gesammelt wurden, sind für diesen Test nicht geeignet.

REAGENZIEN UND IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

1. **Testgeräte** (20 / 40): Jeder Plastikbeutel enthält ein Einmal-Testgerät mit Trockenmittel; die Membranstreifen sind mit den entsprechenden Reagenzien versehen
2. **Konjugatreagenz 1** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Blauschwarze, mit Maus-Anti-Toxin A und Kaninchen-Anti-Toxin B beschichtete Mikropartikel
3. **Konjugatreagenz 2** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Biotinylierte Ziege-Anti-Toxin A und Kaninchen-Anti-Toxin B
4. **Probenverdünner** (12,0 ml x 1) / (12,0 ml x 2): Gepufferte Lösung mit 0,03 % ProClin™ 300
5. **Positivkontrolle** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Kultur-Supernatant, enthält C. difficile Toxin A und B mit Konservierungsstoffen
6. **Negativkontrolle** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Pufferlösung mit Konservierungsstoff
7. **Einwegpipetten** (40 / 80): Pipetten mit Markierungen in 0,1 ml Stufen
8. **Probenröhrchen** (40 / 80): Röhrchen für die Probenentnahme mit 0,5 ml-Markierung
9. **Hölzerne Abstrichstäbchen** (20 / 40)
10. **Gebrauchsanweisung** (1) (IFU)

BENÖTIGTE MATERIALIEN (NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN)
(1) Stuhlproben-Sammelbehälter und (2) Labortimer.

Optionale, nicht mitgelieferte Materialien:
(1) Probentransportmedien, (2) BHI-Bouillon und (3) Teströhrchen-Halter.

VERFAHREN

1. Die Kit-Komponenten und Stuhlproben vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen.
2. Stuhlproben unabhängig von der Konsistenz vor dem Test sorgfältig mischen.
3. Das Testgerät vor dem Test aus dem Plastikbeutel nehmen und auf eine flache Oberfläche legen.
4. Das Gerät (und die Probenröhrchen) mit einer Patienten- oder Kontroll-ID versehen.

Vorbereitung der Proben
Frische (unkonservierte) Stuhlproben:

1. Probenverdünner bis zur markierten Linie zum Probenröhrchen hinzufügen (0,5 ml).
   a. Für feste Stuhlproben ein hölzernes Abstrichstäbchen verwenden und Proben aus unterschiedlichen Bereichen entnehmen. 0,2 g (6-8 mm Durchmesser) der Probe in das Röhrchen geben.
   b. Für halb feste oder flüssige Stuhlproben eine Pipette verwenden, um 0,2 ml (zweite Markierung von der Spitze) der Probe in das Röhrchen zu übertragen. Sorgfältig mischen und große Partikel setzen lassen.
2. Mit Hilfe einer Pipette 0,1 ml (erste Markierung von der Spitze) dieser Mischung in ein weiteres Röhrchen geben.

Stuhlproben in Cary-Blair-Behälter:

1. In modifizierten Cary-Blair-Transportmedien mit Indikator gesammelte Proben werden unverdünnt angewendet.
2. Probe vor dem Test gründlich schütteln.
3. Mit Hilfe einer Pipette 0,1 ml (erste Markierung von der Spitze) dieser Probe in ein weiteres Röhrchen geben.

BHI-Bouillonkultur:

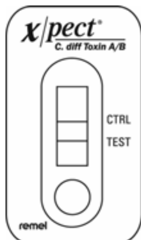
1. Mit Hilfe einer Pipette 0,1 ml (erste Markierung von der Spitze) einer 72-Stunden-BHI-Bouillonkultur mit Verdacht auf *C. difficile* in ein weiteres Röhrchen geben.

Testdurchführung

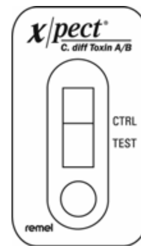
1. 5 Tropfen von Konjugatreagenz 1 in das Röhrchen mit der verdünnten Probe geben.
2. 5 Tropfen von Konjugatreagenz 2 in das Röhrchen mit der verdünnten Probe geben.
3. Den Inhalt des Teströhrchens sorgfältig mischen.
4. Mit Hilfe einer Pipette 0,2 ml (zweite Markierung unterhalb der Pipettenspitze) der Probe in die runde Probenmulde des Testgeräts geben.
5. Die Testergebnisse gemäß den Anweisungen im Abschnitt zur AUSWERTUNG nach 20 Minuten ablesen und aufzeichnen. (Ausgeprägt positive Ergebnisse können vor Ablauf von 20 Minuten angezeigt werden.) Ergebnisse nach Ablauf der 20 Minuten sind ungültig.

AUSWERTUNG DES TESTS

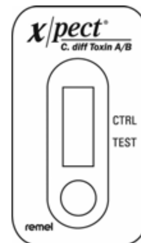
Positives Ergebnis (Toxin A und/oder B vorhanden):
Ein positiver Test ist durch zwei schwarze Linien beliebiger Intensität gekennzeichnet, eine im TEST-Bereich und eine im Kontrollbereich (CTRL). Ein positiver Test weist auf Vorhandensein von *C. difficile* Toxin A und/oder B in der Probe hin.



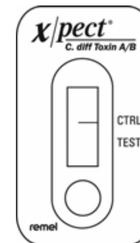
Negatives Ergebnis (Toxin A und/oder B nicht festgestellt):
Ein negativer Test ist durch eine schwarze Linie im Kontrollbereich (CTRL) gekennzeichnet. Ein negativer Test weist darauf hin, dass *C. difficile* Toxin A und/oder B in der Probe nicht vorhanden ist oder unter der Nachweisgrenze des Tests Liegt.



Ungültiges Ergebnis:
Ein ungültiges Ergebnis liegt vor, wenn die TEST-Linie nur teilweise oder unvollständig angezeigt wird oder die Kontrolllinie (CTRL) nach 20 Minuten fehlt oder unvollständig ist.



Kontrolllinie fehlt



Kontrolllinie oder Testlinie ist unvollständig

Falls aufgrund eines eingeschränkten Ablaufens der Probe entlang der Membran ungültige Ergebnisse vorliegen, sollte die Probe wie folgt erneut getestet werden:

Neutest der Probenvorbereitung
Die Probe wie folgt weiter verdünnen:

1. In einem sauberen Röhrchen folgende Komponenten kombinieren:
   a) 5 Tropfen Probenverdünner undb
   b) 0,1 ml (erste Markierung ab Spitze) der Probe aus der anfänglichen Probenvorbereitung in Probenverdünner (ohne weitere Reagenzien).
2. Präparat durch Aspiration mit der Pipette mischen.
3. Testverfahren mit 0,1 ml dieser verdünnten Probenvorbereitung wiederholen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Der Test enthält eine integrierte Verfahrenskontrolle. Das Erscheinen einer Kontrolllinie an der Kontroll position best ä tigt, dass ein intaktes Konjugat ins Gerät gegeben wurde, dass der Kontrolllinien-AntiKörper funkitionell aktiv ist und dass ein adaquater kapillar fluss ein getreten ist. Ein farbloser Hintergrund im Ergebnisbereich wird als interne Negativkontrolle angesehen. Wenn der Test ordnungsgemäß ausgeführt wurde und die Reagenzien ordnungsgemäß funktionieren, wird der Hintergrund farblos, um ein deutliches Ergebnis zu erkennen zu geben.

Extern: Die zum Lieferumfang des Kits gehörende Positiv- und Negativkontrollen sollten mit jeder neuen Lieferung und jeder neuen Kit-Chargennummer durchgeführt werden. Die positive Kontrolle wird verwendet, um die Reaktivtät der Reagenzien im Raham des Assays zu verifizieren. Sie dient nicht dazu, die Genauigkeit des analytischen Assay-Grenzwerts zu gewähreisten. Jedes Labor sollte dabei den jeweiligen staatlichen und lokalen Bestimmungen folgen. Hierzu 0,1 ml (5 Tropfen) der Kontrolle in ein Röhrchen geben und gemäß dem oben beschriebenen Testverfahren verarbeiten (Kontrollen nicht mit Probenverdünner verdünnen). Treten im Rahmen der Qualitätssicherung abweichende Ergebnisse auf, sollten die Ergebnisse des Patienten nicht verwertet werden.

EINSCHRÄNKUNGEN

1. Ein positiver Test bestimmt nicht definitiv das Vorliegen einer Krankheit. Der Test weist das Vorhandensein von Toxin A und/oder Toxin B in Stuhlproben nach. Die Diagnose kann nicht allein anhand der Testresultate erstellt werden; diese müssen in Verbindung mit anderen klinischen Befunden bewertet werden.
2. Wie bei allen *in vitro*-Diagnosetests schließt ein negatives Testergebnis die Möglichkeit des Vorhandenseins von *C. difficile* Toxin A oder Toxin B nicht aus. Dieser Fall kann eintreten, wenn der Toxinwert in der Probe unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt. Die Toxinkonzentration korreliert weder mit dem Vorhandensein noch mit dem Schweregrad der Krankheit. Die Testergebnisse sollten im Kontext anderer Laborbefunde und der Ergebnisse anderer diagnostischer Verfahren interpretiert werden.
3. *Clostridium sordellii* liegt regulär nicht im menschlichen Darm vor, produziert aber ein Toxin (HT), das ähnliche biologische, physiochemische und immunchemische Eigenschaften aufweist wie *C. difficile* Toxin A. Diese Ähnlichkeit kann bei Diagnosetests für den Nachweis von *C. difficile* Toxin A zu einer Kreuzreaktivität führen und/oder B.[11]
4. Die ordnungsgemäße Probenentnahme und -verarbeitung sind entscheidend für eine optimale Durchführung des Tests. Siehe Abschnitt „Probenentnahme, Lagerung und Transport“.
5. Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden für pädiatrische Patientenpopulationen noch nicht vollständig ausgewertet.
6. Ein High-Dose-Hook-Effekt wurde nicht während der BHI-Bouillonkultur beobachtet, in der *C. difficile*, ausgewertet wurde, nachdem man in der reinen Kultur für 72-hours gewachsen war.

ERWARTETE WERTE

Ambulant erworbene CDAD-Fälle sind bekannt, aber die Häufigkeit ist gering (<1 Fall pro 10.000 Antibiotika-Rezepte). Dies kann daran liegen, dass die Diagnosetests zum Nachweis von CDAD für ambulante Patienten nicht häufig genug ausgeführt werden. *C. difficile* colitis tritt wesentlich häufiger bei hospitalisierten Patienten auf; es ist die vierthäufigste nosokomiale Krankheit, die den “Centers for Disease Control and Prevention” gemeldet wird. *C. difficile* ist für 20-30% der Antibiotika-assoziierten Diarrhoen verantwortlich und für über 90% der Fälle mit pseudomembranöser Kolitis. Die Inzidenz der nosokomialen CDAD kann für verschiedene Krankenhauspopulationen variieren und wird vom Vorhandensein prädisponierender Faktoren beeinflusst, so z. B. einem höheren Alter des Patienten, der Art und Dauer der antimikrobiellen Behandlung, der Schwere der zu Grunde liegenden Erkrankung(en) und der Dauer des Krankenhausaufenthaltes. *C. difficile* ist bei 3-5% von gesunden Erwachsenen und bei bis zu 50% von Säuglingen und Jugendlichen vorhanden, die asymptomatische Träger sowohl der Bakterien als auch seiner Toxine sind.[12] Bei der Auswertung von Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B in einer in vier unabhängigen Labors in den USA durchgeführten prospektiven Studie lag die Gesamtprävalenz bei 16%.

LEISTUNGSDATEN

Klinische Genauigkeit:

Die Leistung von Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B wurde an vier Standorten in verschiedenen Regionen der USA getestet. Es wurden insgesamt 815 Proben mit dem Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B Test getestet und mit den Ergebnissen aus dem Zytotoxin-Assay (CTA) verglichen.

Gesamt		CTA Ergebnisse +	CTA Ergebnisse -
Ergebnisse für Xpect®	+	132	25
	-	21	637
	GESAMT	**153**	**662**

Empfindlichkeit: 86,3% (95% CI = 79,8 - 91,3%)
Spezifität: 96,2% (95% CI = 94,5 - 97,5%)
Positiver Prognosewert: 84,1% (95% CI = 77,4 - 89,4%)
Negativer Prognosewert: 96,8% (95% CI = 95,2 - 98,0%)
% Correlation: 94,4% (95% CI = 92,5 - 95,8%)

Hinweis: CI = Konfidenzintervall

Abweichende Ergebnisse wurden unter Verwendung einer toxigenen Kultur und eines Mikrowellen-Enzymassays weiter untersucht, die beide Toxin A und B nachweisen. Vier von 25 Proben, die bei den anfänglichen Tests Zytotoxin-negativ und Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B-positiv waren, waren mit der toxigenen Kultur und dem Enzym-Immunoassay positiv. Zehn der 21 Proben (47,6%), die bei den anfänglichen Tests CTA-positiv und Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B-negativ waren, waren mit der toxigenen Kultur und dem Enzym-Immunoassay negativ.

Leistung im Vergleich zu handelsüblichen Geräten:

Der Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test wurde zudem mit zwei handelsüblichen Produkten verglichen. An jedem der vier Standorte der klinischen Versuche wurde für jede Probe ein chromatografischer Membran-Assay, der nur Toxin A (Prädikatgerät) ermittelt, der Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test und ein Zytotoxin-Assay (CTA) getestet. Zudem wurde an einem Standort für jede Probe ein Microwell-Enzym-Immunoassay für den Nachweis von sowohl Toxin A als auch B getestet. Die folgenden Ergebnisse wurden unter Verwendung von CTA als Referenz ermittelt.

Leistund der Vorrichtungen Hatzu CTA Verglichen:

	n = 815		n = 267	
	Xpect® C. difficile Toxin A/B	**Prädikatgerät**	**Xpect® C. difficile Toxin A/B**	**EIA**
Empfindlichkeit	86.3%	62.7%	91.0%	80.6%
Spezifität	96.2%	98.8%	98.0%	97.5%

Leistung mit BHI-Bouillonkultur:

In einer Inhouse-Studie wurden 21 bekannte Referenzstämme und 36 Stuhlproben mit Verdacht auf *C. difficile*-Isolaten untersucht. Die BHI-Bouillonkulturen wurden im Anschluss an eine 72-stündige Inkubation mit dem Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test getestet. Unter diesen Bedingungen produzierte die BHI-Bouillonkultur von *C. sordellii* ATCC® 9714 eine positive Reaktion. Das Ergebnis war eine Übereinstimmung von 94,7 % (54/57) mit den erwarteten Werten.

Analytische Empfindlichkeit:

Die analytische Empfindlichkeit wurde unter Verwendung von purifiziertem *C. difficile* Toxin A und Toxin B ausgewertet. Der Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test erkennt Toxin A bei Konzentrationen von >6,25 ng/ml (0,12 ng/test) und Toxin B bei Konzentrationen von >40,0 ng/ml (0,76 ng/Test).

Kreuzreaktivität:

Es wurden 54 Mikroorganismen mit dem Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test ausgewertet. Es wurde keine Kreuzreaktivität beobachtet. Bakterien- und Hefeisolate wurden bei 10^8 koloniebildenden Einheiten pro ml Konzentration getestet. Virale Isolate wurden bei Konzentrationen von 10^4 bis 10^5 $TCID_{50}$ (Gewebekultur-infektiöse Dosis) pro ml Konzentration getestet. Die folgenden Organismen wurden im Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test getestet.

Aeromonas hydrophila	*Klebsiella pneumoniae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Proteus mirabilis*
Campylobacter coli	*Proteus vulgaris*
Campylobacter fetus subsp. *fetus*	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*	*Salmonella* Typhimurium
Campylobacter lari	*Serratia liquefaciens*
Candida albicans	*Shigella boydii*
Clostridium botulinum (toxin 20 µg/ml)	*Shigella dysenteriae*
Clostridium beijerinickii	*Shigella flexneri*
Clostridium difficile (non-toxigenic)	*Shigella sonnei*
Clostridium haemolyticum	*Staphylococcus aureus* (Cowan)
Clostridium histolyticum	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium innocuum	*Vibrio cholerae*
Clostridium novyi	*Vibrio parahaemolyticus*
Clostridium perfringens	*Yersinia enterocolitica*
Clostridium septicum	*Giardia intestinalis*
Clostridium sordellii	*Entamoeba histolytica*
Clostridium sporogenes	Adenovirus type 2
Clostridium subterminale	Adenovirus type 40
Clostridium tetani	Adenovirus type 41
Enterobacter aerogenes	Coxsackievirus B4
Enterobacter cloacae	Cytomegalovirus
Enterococcus faecalis	Echovirus (type 22)
Enterococcus faecium	Enterovirus (type 69)
Escherichia coli	Rotavirus

Störende Substanzen:
Die folgenden Substanzen wurden mit dem Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B test getestet und im Assay wurden für keine der an den angegebenen Leveln getesteten Substanzen Störungen beobachtet: Blut, Schleimhaut, Stuhlfett, Pepto-Bismol® (10%v/v), Imodium® AD (10%v/v), Kaopectate® (10%v/v), Castoria® (10%v/v), Vancomycin (12,5 mg/ml), Metronidazol (12,5 mg/ml) und Barium-Sulfat (12,5 mg/ml).

Wiederholbarkeit:
Wiederholbarkeistests wurden an drei Standorten, darunter ein interner Standort, an vier unterschiedlichen Tagen mit sechs Blindporben ausgeführt. Bei den Proben handelte es sich um bekannte positive und negative Stuhlproben. Die Proben produzierten mit dem Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B Test das erwartete Ergebnis zu 98,6 % (71/72).

LITERATURVERWEISE

1. Gerding, D.N., S. Johnson, L.R. Peterson, M.E. Mulligan, and J. Silva, Jr. 1995. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 16:459-477.
2. Limaye, A.P., D.K. Turgeon, B.T. Cookson, and T.R. Fritsche. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:1696-1697.
3. Alfa, M.J., A. Kabani, D. Lyerly, S. Moncrief, L.M. Neville, A. Al-Barrak, G.K.H. Harding, B. Dyck, K. Olekson, and J.M. Embil. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:2706-2714.
4. Barbut, F., V. Lalande, B. Burghoffer, H.V. Thien, E. Grimprel, and J. Petit. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:2079-2083.
5. Johnson, S., S.P. Sambol, J.S. Brazier, M. Delmée, V. Avesani, M.M. Merrigan, and D.N. Gerding. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:1543-1547.
6. Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. Kim, Y. Chong, and E.B. Wasito. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:2178-2182.
7. Johnson, S., S.A. Kent, K.J. O'Leary, M.M. Merrigan, S.P. Sambol, L.R. Peterson, and D.N. Gerding. 2001. Ann. Intern. Med. 135:434-438.
8. Wilkins, T.D. and D.M. Lyerly. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:531-534.
9. Fedorka, D.P. 2002. Clin. Microbiol. Newsletter. 24:76-79.
10. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
11. Lyerly, D.M., H.C. Krivan, and T.D. Wilkins. 1988. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
12. Mandell, G.L., J.E. Bennett, and R. Dolin. 2000. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone. New York, NY.

PACKUNGSINHALT

REF R24650, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B ....20 Tests/Kit
REF R24640, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B ....40 Tests/Kit

SYMBOLLEGENDE

REF	Katalognummer
IVD	In-vitro-Diagnostikum
LAB	Für Laborgebrauch
	Gebrauchsanweisung lesen
	Temperaturgrenzen (Lagertemperatur)
LOT	Chargencode (Lotnummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
EC REP	Autorisierte Vertretung für U-Länder



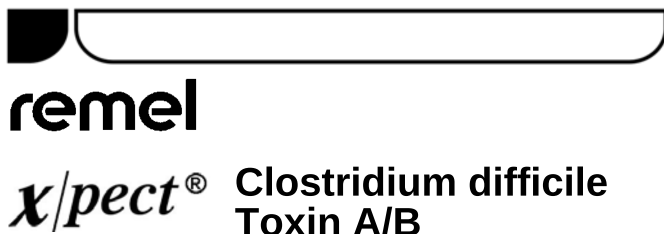
Xpect® ist eine Marke der Remel Inc.

Pepto-Bismol®, Imodium®, Kaopectate®, und Castoria®, sind eingetragene Marken von Procter & Gamble, McNeil Consumer & Specialty Pharmaceuticals, Pharmacia & Upjohn Company und The Mentholatum Company, Inc.

ProClin™ ist eine Marke der Rohm and Haas Company.

IFU 24650, Revidierte Fassung vom 2007-08-27 Gedruckt in den USA.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Allgemeine Auskünfte: (800) 255-6730 Technische Unterstützung: (800) 447-3641 Bestellungen: (800) 447-3635
Telefon lokal/international: (913) 888-0939 Fax international: (913) 895-4128
Website: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com



x|pect® Clostridium difficile Toxin A/B

APPLICATION
Le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile de Remel est un test immunochromatographique *in vitro* rapide pour la détection qualitative directe de la toxine A et/ou B du *Clostridium difficile* dans les échantillons fécaux de patients chez lesquels on suspecte une maladie liée au *C. difficile*. Le test est conçu pour faciliter le diagnostic des maladies liées au *C. difficile*. Le test peut également être utilisé pour confirmer la présence de *C. difficile* toxigène dans un bouillon cervelle-cœur.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION
L'agent *Clostridium difficile* a été identifié pour la première fois en 1935 mais les liens entre l'organisme et la maladie n'ont été établis qu'en 1977. Le *C. difficile* est un bacille anaérobie à Gram positif formant des spores et produisant des toxines. La présentation clinique de l'infection au *C. difficile* comporte, par ordre croissant de sévérité, les porteurs asymptomatiques, les colites associées aux antibiotiques, les colites pseudomembraneuses et les colites fulminantes.[1] Une baisse de la flore microbienne normale du côlon, généralement causée par une antibiothérapie, permet une surcroissance de l'agent *C. difficile*. Les symptômes des colites associées aux antibiotiques se déclarent généralement entre quatre et dix jours après le début de l'antibiothérapie.

La plupart des souches pathogènes de *C. difficile* produisent deux toxines, la toxine A (entérotoxine) et la toxine B (cytotoxine), qui sont les principaux facteurs de virulence dans l'organisme. Il semble que l'expression de l'activité de ces toxines soit due à un enchaînement d'évènements. La toxine A est légèrement cytopathogène mais elle induit d'importants mouvements de fluides et une inflammation des muqueuses. La toxine B est fortement cytopathogène mais son rôle dans le processus de la maladie n'est pas clairement établi. On a identifié différentes souches négatives à la toxine A et positives à la toxine B, totalement pathogènes et capables d'entraîner l'apparition de l'ensemble des maladies citées. La prévalence de ces variantes diffère selon les établissements et les zones géographiques.[2-7]

La maladie à *C. difficile* se développe en priorité chez les patients hospitalisés.[8,9] Les patients atteints d'une maladie à *C. difficile* rejettent des spores résiduelles dans les selles, spores qui peuvent survivre jusqu'à cinq mois dans la nature. Les signes cliniques et pathologiques des maladies à *C. difficile* ne sont pas faciles à distinguer de ceux des autres maladies gastro-intestinales comme la colite ulcéreuse, la maladie inflammatoire chronique intestinale et la maladie de Crohn. L'infection à *C. difficile* toxigène peut mettre en jeu le pronostic vital mais lorsqu'elle est correctement traitée, le taux de mortalité des patients est faible. Par conséquent, il est important pour les médecins de pouvoir démarrer le traitement correspondant et de prendre des mesures appropriées pour maîtriser la contamination nosocomiale grâce à un diagnostic rapide.

PRINCIPE
Le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile est un test immunochromatographique qualitatif qui détecte les toxines A et B du bacille *C. difficile* dans les échantillons de selles ou les cultures de *C. difficile* toxigène. Lors du test, l'échantillon est d'abord dilué avec du diluant d'échantillons afin de faciliter la solubilisation des toxines. Une partie de l'échantillon dilué est alors mélangé à une dose de conjugué 1 contenant des anticorps dirigés contre la toxine A et contre la toxine B associé à des microp articules colorées, plus une dose de Conjugué 2 contenant des anticorps biotinylés dirigés contre les toxines A et B. Une dose de ce mélange est transférée dans un dispositif de test utilisant de la streptavidine immobilisée comme ligne de test et un anticorps de chèvre anti-immunoglobuline comme ligne de contrôle. Les complexes immuns de toxines et d'anticorps conjugués forment une bande visible lorsqu'ils passent sur la ligne de test. Les conjugués de particules colorées en excès forment une bande visible dans la ligne de contrôle indiquant que le test fonctionne correctement.

CONSERVATION
Conserver les dispositifs de test dans des poches hermétiquement fermées entre 2 et 30°C (température ambiante ou au réfrigérateur). Conserver tous les flacons et bouteilles de réactif du kit entre 2 et 8°C. Ne pas congeler ou surchauffer. Attendre que les composants soient à température ambiante avant de les utiliser. Avant utilisation, mélanger doucement les bouteilles de réactif. Remettre les réactifs non utilisés dans le réfrigérateur après utilisation.

PRÉCAUTIONS
1. Pour utilisation diagnostique *in vitro*.
2. Toutes les précautions contre les risques microbiologiques doivent être prises et il est indispensable de bien stériliser les prélèvements, les récipients et les dispositifs de test après usage. Consulter la documentation appropriée lorsque cela est nécessaire.[10]
3. Toutes les instructions doivent être lues attentivement et scrupuleusement respectées.
4. Les réactifs sont prêts à l'emploi et peuvent être transférés directement depuis les flacons compte-gouttes. Ne pas diluer les réactifs.
5. Les réactifs provenant de kits de différents lots ne sont pas interchangeables.
6. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
7. La contamination microbienne des réactifs peut diminuer la précision du test.

PRÉLÈVEMENT, CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS
Les échantillons doivent être placés dans des récipients propres et hermétiques.

- Les échantillons de selles frais non traités doivent être stockés entre 2 et 8°C et être examinés dans les 72 heures. S'il est impossible de tester les échantillons frais dans les 72 heures, ils doivent être congelés dans un congélateur sans dégivrage à au moins -20°C et analysés dans les 2 mois suivant le prélèvement. Éviter les décongélation et re-congélation répétées.
- Les échantillons frais dilués avec le diluant fourni dans le kit peuvent être conservés jusqu'à 24 heures avant d'être testés s'ils sont réfrigérés.
- Les échantillons de selles recueillis dans un milieu de transport Cary Blair modifié avec un indicateur (ou équivalent) peuvent être réfrigérés (2 à 8°C) ou conservés à température ambiante (20 à 25°C), et doivent être testés dans les cinq jours suivant le prélèvement.
- Les échantillons de selles qui ont été concentrés ou prélevés dans du formol, du SAF (sodium-acétate-formol) ou du PVA (alcool polyvinyle) ne peuvent pas être utilisés avec ce test.

RÉACTIFS ET MATÉRIELS FOURNIS — 20 / 40 Test
1. **Dispositifs de test** (20 / 40): Chaque sachet contient un dispositif de test à usage unique avec un dessiccatif; la membrane est enduite de réactifs de capture
2. **Réactif conjugué 1** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Microparticules bleu-noir enduites d'anticorps de souris antitoxine A et d'anticorps de lapin antitoxine B
3. **Réactif conjugué 2** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Anticorps de chèvre biotinylés antitoxine A et anticorps de lapin antitoxine B
4. **Diluant d'échantillon** (12,0 ml x 1) / (12,0 ml x 2): Solution tamponnée avec 0,03 % de ProClin™ 300
5. **Contrôle positif** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Surnageant de culture contenant les toxines A et B de C. difficile avec conservateur
6. **Contrôle négatif** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Solution tamponnée avec conservateur
7. **Pipettes de transfert jetables** (40 / 80): Les pipettes sont graduées tous les 0,1 m
8. **Tubes de dilution** (40 / 80): Tubes pour préparation d'échantillons avec un volume marqué de 0,5 ml
9. **Bâtonnets applicateurs en bois** (20 / 40)
10. **Mode d'emploi** (1) (IFU)

MATÉRIELS REQUIS MAIS NON FOURNIS

(1) Pot(s) pour prélèvement des échantillons de selles et (2) Minuteur.

Accessoires facultatifs non fournis:

(1) Milieux de transport d'échantillons, (2) Bouillon cervelle-cœur et (3) Support de tubes à essai.

PROCÉDURE

1. Laisser les composants du kit et les échantillons de selles atteindre la température ambiante avant utilisation.
2. Bien mélanger les échantillons fécaux avant le test (quelle que soit la consistance).
3. Lorsque tout est prêt pour le test, sortir le dispositif de test de la poche métallisé et le placer sur une surface plane.
4. Apposer une étiquette identifiant le patient ou le contrôle sur le dispositif (et les tubes de dilution).

Préparation des échantillons

Échantillons de selles fraîches (non fixées):

1. Ajouter du diluant d'échantillon jusqu'à la ligne tracée sur le tube de dilution (0,5 ml).
   a. Pour les échantillons de selles solides, utiliser un bâtonnet applicateur en bois et effectuer des prélèvements sur différentes parties de l'échantillon. Transférer une portion de 0,2 g de selles (de 6 à 8 mm de diamètre) dans le tube de dilution.
   b. Pour les échantillons de selles semi-solides ou liquides, utiliser une pipette de transfert pour transférer 0,2 ml (deuxième graduation en partant de la pointe) d'échantillon dans le tube de dilution.
2. Bien mélanger et laisser les particules les plus importantes se déposer.
3. Utiliser une pipette de transfert pour verser 0,1 ml (première graduation en partant de la pointe) de cette préparation dans un autre tube de dilution.

Échantillon de selles en milieu Cary Blair:

1. Les échantillons recueillis dans des milieux de transport Cary-Blair modifiés avec un indicateur sont utilisés sans dilution supplémentaire.
2. Bien mélanger les échantillons avant le test.
3. Utiliser une pipette de transfert pour verser 0,1 ml (première graduation en partant de la pointe) de l'échantillon dans un tube de dilution.

Bouillon de culture cervelle-cœur:

1. Utiliser une pipette de transfert pour verser dans un tube de dilution 0,1 ml (première graduation en partant de la pointe) du bouillon cervelle-cœur de 72 heures soupçonné de contenir le *C. difficile*.

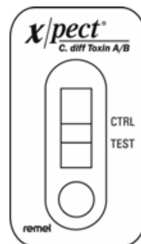
Procédure du test

1. Ajouter 5 gouttes de réactif 1 conjugué dans le tube de dilution contenant l'échantillon dilué.
2. Ajouter 5 gouttes de réactif 2 conjugué dans le tube de dilution contenant l'échantillon dilué.
3. Bien mélanger le contenu du tube.
4. Utiliser une pipette de transfert pour verser 0,2 ml (deuxième graduation en partant de la pointe) d'échantillon dans le puits du dispositif de test.
5. Lire et enregistrer les résultats du test après 20 minutes, conformément à la section INTERPRÉTATION. (Des résultats clairement positifs peuvent être visibles avant le délai de 20 minutes.). Les résultats ne sont pas valides au delà de 20 minutes.

INTERPRÉTATION DU TEST

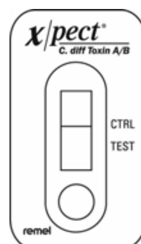
Résultat positif (Toxine A et/ou B présente):

Un test positif est indiqué par deux lignes noires, quelle que soit leur intensité, une dans la zone TEST et l'autre dans la zone de contrôle (CTRL). Un test postif indique la présence des toxines A et/ou B de *C. difficile* sans dans l'échantillon.



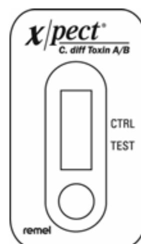
Résultat négatif (Toxine A et/ou B non détectée):

Un test négatif est indiqué par une seule ligne noire dans la zone de contrôle (CTRL). Un test négatif inadique que les toxines A et/ou B de *C. difficile* sont absentes ou en dessours du seuil de détection du test.

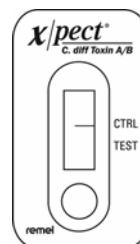


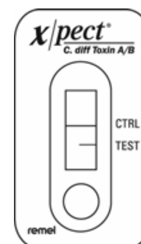
Résultat non valide:

Un résultat est considéré comme non valide lorsque la ligne TEST est partielle ou incomplète ou bien lorsque la ligne de contrôle (CTRL) est inexistante ou incomplète après 20 minutes.



La ligne de Contrôle est inexistante





La ligne de Contrôle ou de Test est partielle ou incomplète

Si des résultats invalides sont obtenus en raison d'un mauvais écoulement de l'échantillon le long de la membrane, cet échantillon doit être testé de nouveau comme indiqué ci-après:

Préparation des échantillons pour un nouveau test

Diluer un peu plus l'échantillon tel qu'indiqué ci-dessous:

1. Dans un tube de dilution propre, mélanger:
   a. 5 gouttes de diluant d'échantillon et
   b. 0,1 ml (première graduation en partant de la pointe) d'échantillon provenant de l'échantillon initial dilué avec le diluant d'échantillon (sans réactif ajouté).
2. Mélanger la préparation en aspirant avec la pipette de transfert.
3. Utiliser 0,1 ml de cette préparation d'échantillon dilué et recommencer la procédure de test.

CONTRÔLE QUALITÉ

Interne: Un contrôle de la procédure est inclus dans le test. L'apparition d'une ligne de contrôle à l'emplacement CTRL permet de vérifier quele conjugué ajounté dans le dispositif est intact, que l'anticorps de la ligne de contrôle est actif et que la migration capillaire est a déquate. Un fond clair dans la zone de résultats est considéré comme un contrôle interne négatif. Si le test a été effectué correctement et si les réactifs fonctionnent correctement, le fond se dégagera pour donner un résultat discernable.

Externe: Les contrôles qualité positif et négatif fournis avec le kit doivent être testés à chaque réception d'un kit portant un nouveau numéro de lot. Le contrôle positif est utilisé pour vérifier la réactivité des réactifs associés au test et n'est pas destiné à garantir la précision lors de la clôture du dosage analytique. Il incombe à chaque laboratoire de s'assurer du respect des réglementations nationales et locales en vigueur. Pour utiliser les contrôles, ajouter 0,1 ml (5 gouttes) de contrôle dans un tube de dilution et procéder conformément à la procédure de test expliquée plus haut (ne pas diluer les contrôles avec du diluant d'échantillon). En cas de résultats de contrôle qualité aberrants, ne pas tenir compte des résultats du patient.

LIMITES

1. Un test positif n'indique pas nécessairement la présence d'une maladie associée. Le test détecte la présence de toxine A et/ou de toxine B dans les échantillons fécaux. Pour établir le diagnostic, il faut utiliser le résultat du test en conjonction avec les autres résultats cliniques.
2. Comme dans tous les tests diagnostiques *in vitro*, un résultat de test négatif n'exclut pas l'éventuelle présence de toxine A ou B de *C. difficile* parce que le taux de toxine dans l'échantillon peut être inférieur au seuil de détection du test. Il n'a pas été démontré que le niveau de toxine avait un lien avec la présence ou la sévérité de la maladie. Les résultats du test doivent être interprétés par un médecin en tenant compte des autres analyses de laboratoire et résultats cliniques.
3. *Clostridium sordellii* n'est pas un habitant courant de l'intestin humain mais il produit une toxine (HT) dont les propriétés biologiques, physicochimiques et immunochimiques sont similaires à celles de la toxine A de *C. difficile*. Cette similitude peut entraîner une réactivité croisée dans tout test diagnostique qui détecte la toxine A de *C. difficile* et/ou B.[11]
4. La qualité du prélèvement et du traitement des échantillons est essentielle pour un fonctionnement optimal du test. Consulter la section Prélèvement, conservation et transport des échantillons.
5. Les caractéristiques de performances de ce test n'ont pas été entièrement évaluées chez des patients pédiatriques.
6. On n'a pas observé un effet de crochet de dose élevée pendant l'étude de culture de bouillon de BHI dans laquelle du *C. difficile* a été évalué après croissance dans la culture pure pour 72-hours.

VALEURS ATTENDUES

Les cas de maladies communautaires liées au *C. difficile* sont reconnus mais l'incidence est faible (moins de 1 cas pour 10 000 prescriptions d'antibiotique). Cela peut être dû au fait que les tests de diagnostic ne sont pas effectués assez souvent en consultation ambulatoire pour détecter les maladies à *C. difficile*. Les colites à *C. difficile* sont beaucoup plus fréquentes chez les patients hospitalisés; elles représentent la quatrième maladie nosocomiale la plus répandue d'après les Centers for Disease Control and Prevention. La bactérie *C. difficile* est responsable de 20 à 30 % des diarrhées associées aux antibiotiques et de plus de 90 % des colites pseudo-membraneuses. Le taux d'incidence des maladies nosocomiales à *C. difficile* peut varier selon les populations hospitalières et dépend des prédispositions existantes telles que l'augmentation de l'âge des patients, le type et la durée de la thérapie antimicrobienne, la sévérité de la ou des maladie(s) sous-jacente(s) et la durée de l'hospitalisation. *C. difficile* est présent chez 3 à 5 % des adultes en bonne santé et jusqu'à 50 % des enfants en bas âge et des jeunes adultes porteurs de la bactérie et de ses toxines de façon asymptomatique.[12] Un taux global de prévalence de 16% a été observé lors de l'évaluation du test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile dans une étude prospective menée par quatre laboratories indépendants aux Etats-Unis.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Exactitude clinique:

Les performances du test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile ont été évaluées dans quatre régions différentes des États-Unis. Un total de 815 échantillons ont été testés avec le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile et comparés aux résultats obtenus avec le test de cytotoxine (CTA).

ENSEMBLE		Résultats du test CTA +	Résultats du test CTA -
Résultats du test Xpect ®	+	132	25
	-	21	637
	TOTAL	**153**	**662**

Sensibilité: 86,3 % (IC à 95 % = 79,8-91,3 %)
Spécificité: 96,2 % (IC à 95 % = 94,5-97,5 %)
Valeur prédictive positive: 84,1 % (IC à 95 % = 77,4-89,4 %)
Valeur prédictive négative: 96,8 % (IC à 95 % = 95,2-98,0 %)
% decorré: 94,4 % (IC à 95 % = 92,5-95,8 %)

Remarque: IC = Intervalle de confiance

Les résultats ne correspondant pas ont été plus amplement étudiés par des cultures toxigènes et des dosages immunoenzyma-tiques en micropuits permettant de détecter les toxines A et B. Quatre des 25 échantillons négatifs au test CTA et positifs au test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile lors des test initiaux se sont révélés positifs avec la culture toxigène et le dosage immunoenzymatique. Sur 21 échantillons initialement positifs au test CTA et négatifs au test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile, 10 (47,6 %) étaient négatifs avec la culture toxigène et le dosage immunoenzymatique.

Performances comparées avec celles des autres dispositifs disponibles sur le marché:

Le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile a également été comparé à deux autres produits disponibles. Chacun des quatre sites cliniques a utilisé un test sur membrane chromatographique pouvant détecter la toxine A uniquement (Predicate), le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile et le test CTA pour chaque échantillon. De plus, un site de tests cliniques a essayé un dosage immunoenzymatique en micropuits pour détecter les toxines A et B pour chaque échantillon. Les résultats présentés ci-dessous sont calculés en utilisant le test CTA comme référence.

L'exécution d'Appariels A Comparé à CTA:

	n = 815		n = 267	
	Kit Xpect® Toxine A/B de C. difficile	**Dispositif Predicate**	**Kit Xpect® Toxine A/B de C. difficile**	**EIA**
Sensibilité	86.3%	62.7%	91.0%	80.6%
Spécificité	96.2%	98.8%	98.0%	97.5%

Performances du bouillon de culture cervelle-cœur:

Une étude interne a été menée en utilisant 21 souches de référence connues et 36 isolats d'échantillons de selles soupçonnés de contenir *C. difficile*. Les bouillons de culture cervelle-cœur ont été testés avec le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile après 72 heures d'incubation. Dans ces conditions, le bouillon de culture cervelle-cœur de *C. sordellii* ATCC® 9714 a entraîné une réaction positive. Il a été trouvé un niveau de concordance de 94,7 % (54/57) avec les valeurs attendues.

Sensibilité analytique:

La sensibilité analytique a été évaluée en utilisant une toxine A et une toxine B de *C. difficile* purifiées. Le kit Xpect® détecte la toxine A à des niveaux > 6,25 ng/ml (0,12 ng/test) et la toxine B à des niveaux > 40,0 ng/ml (0,76 ng/test).

Réactivité croisée:
Cinquante-cinq micro-organismes ont été évalués avec le kit Xpect®. Aucune réactivité croisée n'a été observée. Des isolats de levures et de bactéries ont été testés à des concentrations de 10^8 unités formant colonie par ml. Des isolats viraux ont été testés à des concentrations allant de 10^4 à 10^5 $DICT_{50}$ (dose infectieuse en culture tissulaire) par millilitre. Les organismes suivants ont été testés avec le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile.

Aeromonas hydrophila
Bacillus cereus
Bacillus subtilis
Bacteroides fragilis
Campylobacter coli
Campylobacter fetus subsp. *fetus*
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*
Campylobacter lari
Candida albicans
Clostridium botulinum (toxin 20 µg/ml)
Clostridium beijerinickii
Clostridium difficile (non-toxigenic)
Clostridium haemolyticum
Clostridium histolyticum
Clostridium innocuum
Clostridium novyi
Clostridium perfringens
Clostridium septicum
Clostridium sordellii
Clostridium sporogenes
Clostridium subterminale
Clostridium tetani
Enterobacter aerogenes
Enterobacter cloacae
Enterococcus faecalis
Enterococcus faecium
Escherichia coli
Klebsiella pneumoniae
Peptostreptococcus anaerobius
Porphyromonas asaccharolytica
Proteus mirabilis
Proteus vulgaris
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella Typhimurium
Serratia liquefaciens
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus (Cowan)
Staphylococcus epidermidis
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus
Yersinia enterocolitica
Giardia intestinalis
Entamoeba histolytica
Adenovirus type 2
Adenovirus type 40
Adenovirus type 41
Coxsackievirus B4
Cytomegalovirus
Echovirus (type 22)
Enterovirus (type 69)
Rotavirus

Substances interférentes:
Les substances suivantes ont été testées avec le kit Xpect® et aucune interférence n'a été observée lors du test pour les substances testées aux niveaux indiqués: sang, mucus, graisse fécale, Pepto-Bismol® (10 % v/v), Imodium® AD (10 % v/v), Kaopectate® (10 % v/v), Castoria® (10 % v/v), vancomycine (12,5 mg/ml), métronidazole (12,5 mg/ml) et sulfate de baryum (12,5 mg/ml).

Reproductibilité:
Des tests de reproductibilité ont été effectués sur trois sites, dont un site interne, sur quatre jours, avec six échantillons en aveugle. Les échantillons étaient constitués d'échantillons fécaux positifs et négatifs. Dans 98,6% des cas (71/72), les échantillons ont donné les résultats attendus avec le test Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile.

BIBLIOGRAPHIE

1. Gerding, D.N., S. Johnson, L.R. Peterson, M.E. Mulligan, and J. Silva, Jr. 1995. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 16:459-477.
2. Limaye, A.P., D.K. Turgeon, B.T. Cookson, and T.R. Fritsche. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:1696-1697.
3. Alfa, M.J., A. Kabani, D. Lyerly, S. Moncrief, L.M. Neville, A. Al-Barrak, G.K.H. Harding, B. Dyck, K. Olekson, and J.M. Embil. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:2706-2714.
4. Barbut, F., V. Lalande, B. Burghoffer, H.V. Thien, E. Grimprel, and J. Petit. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:2079-2083.
5. Johnson, S., S.P. Sambol, J.S. Brazier, M. Delmée, V. Avesani, M.M. Merrigan, and D.N. Gerding. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:1543-1547.
6. Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. Kim, Y. Chong, and E.B. Wasito. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:2178-2182.
7. Johnson, S., S.A. Kent, K.J. O'Leary, M.M. Merrigan, S.P. Sambol, L.R. Peterson, and D.N. Gerding. 2001. Ann. Intern. Med. 135:434-438.
8. Wilkins, T.D. and D.M. Lyerly. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:531-534.
9. Fedorka, D.P. 2002. Clin. Microbiol. Newsletter. 24:76-79.
10. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
11. Lyerly, D.M., H.C. Krivan, and T.D. Wilkins. 1988. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
12. Mandell, G.L., J.E. Bennett, and R. Dolin. 2000. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone. New York, NY.

CONDITIONNEMENT
REF R24650, Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile....... 20 tests/kit
REF R24640, Xpect® Toxine A/B de Clostridium difficile....... 40 tests/kit

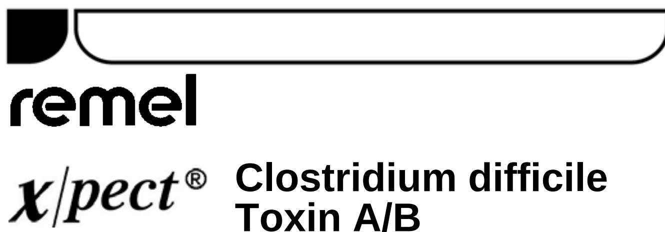
LÉGENDE DES SYMBOLES

REF	Numéro de référence
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
LAB	Pour l 'usage de laboratoire
	Lire les instructions avant utilisation (IFU = mode d'emploi)
	Limites de température (stockage)
LOT	Code de lot (numéro)
	À utiliser avant le (date de péremption)
EC REP	Représentant autorisé pour l'UE



IFU 24650, révisé le 2007-08-27 Imprimé aux États-Unis

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, États-Unis
Renseignements : (800) 255-6730 Service technique : (800) 447-3641 Service commercial : (800) 447-3635 (États-Unis)
Téléphone (international) : +1 (913) 888-0939 Télécopie (international) : +1 (913) 895-4128
Site Web : www.remel.com E-mail : remel@remel.com



xpect® Clostridium difficile Toxin A/B

USO PREVISTO
Il kit di test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B Remel è un test rapido immunocromatografico in vitro per il rilevamento diretto qualitativo della tossina A e/o B del *Clostridium difficile* in campioni fecali umani di pazienti in cui si sospetta la presenza di malattie associate al *C. difficile* (*C. difficile*-associated disease, CDAD). Il test è indicato per l'uso come ausilio nella diagnosi di CDAD. Il test può inoltre essere usato per la conferma di *C. difficile* tossigeno da un brodo di coltura Brain Heart Infusion (BHI).

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO
Il *Clostridium difficile* è stato descritto per la prima volta nel 1935, ma solo nel 1977 sono stati fatti collegamenti fra l'organismo e la malattia. Il *C. difficile* è un bacillo anaerobico gram-positivo che produce tossina e forma spore. La presentazione clinica dell'infezione da *C. difficile* comprende, in ordine crescente di gravità, carrier asintomatici, colite associata agli antibiotici, colite pseudomembranosa (PMC) e colite fulminante.[1] Una riduzione della normale flora microbica nel colon, normalmente causata da terapia antibiotica, consente una sovracrescita del *C. difficile*. I sintomi della colite associata agli antibiotici iniziano di solito da quattro a dieci giorni dopo l'inizio del trattamento antibiotico.

La maggior parte dei ceppi patogeni di *C. difficile* producono due tossine, la tossina A (enterotossina) e la tossina B (citotossina), che sono i fattori di maggiore virulenza per l'organismo. Sembra esservi una cascata di eventi che generano l'espressione dell'attività di queste tossine. La tossina A è scarsamente citopatica ma induce grandi spostamenti di fluidi e un'infiammazione delle mucose. La tossina B è intensamente citopatica ma il suo ruolo nel processo del morbo non è stato compreso chiaramente. Sono noti ceppi di varianti negativi alla tossima A e positivi alla tossina B, completamente patogenici e in grado di produrre l'intero spettro della malattia. La prevalenza di questi ceppi di varianti varia ampiamente a seconda dell'istituzione e della posizione geografica.[2-7]

Le malattie associate al *C. difficile* (CDAD) si verificano principalmente in pazienti ricoverati.[8,9] Le persone con CDAD presentano spore nelle feci, che possono sopravvivere anche cinque mesi nell'ambiente. Le caratteristiche cliniche e patologiche della CDAD non sono facilmente distinguibili da quelle di altre malattie gastrointestinali, compresa la colite ulcerosa, malattie infiammatorie croniche dell'intestino e il morbo di Crohn. L'infezione da *C. difficile* tossigeno è un processo potenzialmente pericoloso per la vita; tuttavia, se trattato adeguatamente, i tassi di mortalità dei pazienti sono bassi. Ecco perché è importante una diagnosi rapida che consenta ai medici di iniziare una terapia appropriata e di implementare azioni adeguate per controllare la diffusione nel nosocomio.

PRINCIPIO
Il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B è un saggio qualitativo immunocromatografico che rileva la tossina A e la tossina B del *C. difficile* in campioni di feci o in colture di *C. difficile* tossigeno. Nell'esecuzione del test, un campione viene prima diluito con un diluente per campioni allo scopo di solubilizzare le tossine. Una parte del campione diluito viene quindi miscelata a un volume di coniugato 1 contenente anticorpi alla tossina A e alla tossina B abbinati a microparticelle colorate, nonché un volume di coniugato 2 contenente anticorpi biotinilati alla tossina A e alla tossina B. Un volume di questa miscela viene quindi trasferito a un dispositivo di test avente la streptavidina immobilizzata come linea di test e un anticorpo anti-immunoglobulina di capra come linea di controllo. Gli immunocomplessi di tossina e di anticorpi coniugati formano una striscia visibile mentre fluiscono sulla linea di test. I coniugati di particelle colorati in eccesso formano una striscia visibile alla linea di controllo, al fine di documentare che il test sta funzionando adeguatamente.

CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE
Conservare i dispositivi per test in confezioni metallizzate sigillate a 2-30°C (temperatura ambiente o refrigerati). Conservare tutti i flaconi e le fiale dei kit di reagenti a 2-8°C. Non surgelare né surriscaldare. Portare i componenti a temperatura ambiente prima dell'uso. Quindi, miscelare delicatamente i reagenti in flacone. Dopo l'uso rimettere in frigorifero i reagenti non utilizzati.

PRECAUZIONI
1. Per uso diagnostico *In Vitro*.
2. Si raccomanda di prendere le normali precauzioni contro eventuali rischi biologici sterilizzando opportunamente dopo l'uso campioni, contenitori e dispositivi per test. Consultare la bibliografia appropriata se necessario.[10]
3. Leggere con attenzione le istruzioni contenute in questo documento e seguirle scrupolosamente.
4. I reagenti sono forniti già diluiti in modo ottimale e devono essere dispensati direttamente dai flaconi contagocce. Non diluire i reagenti.
5. Non scambiare alcun reagente di un kit con altri di un lotto differente.
6. Non utilizzare reagenti scaduti.
7. La contaminazione batterica dei reagenti può ridurre la precisione del saggio.

RACCOLTA, CONSERVAZIONE E TRASPORTO DEI CAMPIONI
I campioni devono essere prelevati utilizzando contenitori di plastica puliti, ermeticamente sigillati e a prova di perdite.

- I campioni fecali freschi e non trattati devono essere conservati a 2-8°C ed esaminati entro 72 ore dalla raccolta. Nel caso in cui non sia possibile esaminare i campioni freschi nel giro di 72 ore, essi possono venire congelati a una temperatura di -20°C o inferiore in un freezer non a sbrinamento automatico ed esaminati entro 2 mesi dalla raccolta. Evitare numerosi cicli di congelamento e scongelamento.
- I campioni freschi diluiti nel diluente per campioni fornito nel kit possono essere conservati refrigerati fino ad un massimo di 24 ore prima dell'analisi.
- I campioni fecali raccolti nel terreno di trasporto Cary Blair modificato con indicatore (o equivalente) possono essere refrigerati (2-8°C) o conservati a temperatura ambiente (20-25°C) e devono essere esaminati entro 5 gironi dalla raccolta.
- I campioni fecali che sono stati concentrati o raccolti in formalina, SAF, PVA non sono adatti per l'uso con questo test.

REAGENTI E MATERIALI FORNITI — 20 / 40 Test
1. **Dispositivi per test** (20 / 40): Ogni bustina protettiva contiene un dispositivo per test monouso con dessiccante; la membrana è dotata di strisce con reagenti per cattura
2. **Reagente coniugato 1** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Micro-particelle blu-nere rivestite con anti-tossina A di topo e anti-tossina B di coniglio
3. **Reagente coniugato 2** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2): Anti-tossina A biotinilata di capra e anti-tossina B di coniglio
4. **Diluente per campioni** (12,0 ml x 1) / (12,0 ml x 2): Soluzione tampone con lo 0,03% di ProClin™ 300
5. **Controllo positivo** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Sovranatante da coltura contenente la tossina A e B del C. difficile con conservanti
6. **Controllo negativo** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2): Soluzione tampone con conservante
7. **Pipette di trasferimento monouso** (40 / 80): Pipette graduate ad intervalli di 0,1 ml
8. **Provette per diluizione** (40 / 80): Provette per la preparazione dei campioni con volume marcato da 0,5 ml
9. **Tamponcini applicatori in legno** (20 / 40)
10. **Istruzioni per l'uso** (1) (IFU)

MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO
(1) Contenitori per la raccolta dei campioni fecali e (2) timer.

Materiali opzionali non forniti:
(1) Terreni di trasporto per campioni, (2) brodo BHI e (3) rack per provette di test.

PROCEDIMENTO
1. Portare i componenti del kit e i campioni fecali a temperatura ambiente prima dell'uso.
2. Miscelare **accuratamente** i campioni fecali prima del test (indipendentemente dalla consistenza).
3. Quando si è pronti ad eseguire il test, estrarre il dispositivo per test dalla confezione e posizionarlo su una superficie piatta.
4. Etichettare il dispositivo (e le provette di diluizione) con l'identificazione del paziente o del controllo.

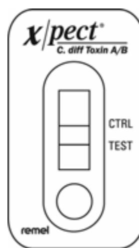
__Preparazione del campione__
Campioni fecali freschi (non conservati):
1. Aggiungere il diluente per campioni fino alla linea marcata sulla provetta di diluizione (0,5 ml).
   a. Per campioni fecali solidi, usare un tamponcino applicatore in legno e campionare da aree separate del campione. Trasferire una porzione da 0,2 g (6-8 mm di diametro) di feci alla provetta di diluizione.
   b. Per campioni fecali semi-solidi o liquidi, usare una pipetta di trasferimento per trasferire 0,2 ml (seconda tacca graduata dalla punta) di campione alla provetta di diluizione.
2. Miscelare accuratamente e lasciar depositare i particolati grandi.
3. Usare una pipetta di trasferimento per dispensare 0,1 ml (prima tacca graduata incisa dalla punta) di questo preparato in un'altra provetta di diluizione.

Campioni fecali in Cary Blair:
1. I campioni raccolti in terreno di trasporto Cary Blair modificato con indicatore vengono usati senza ulteriore diluizione.
2. Miscelare accuratamente i campioni prima del test.
3. Usare una pipetta di trasferimento per dispensare 0,1 ml (prima tacca graduata incisa dalla punta) del campione in una provetta di diluizione.

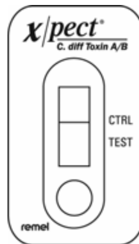
Brodo di coltura BHI:
1. Usare una pipetta di trasferimento per dispensare 0,1 ml (prima tacca graduata incisa dalla punta) di un brodo di coltura BHI di 72 ore con sospetto di *C. difficile* in una provetta di diluizione.

__Procedimento__
1. Aggiungere 5 gocce di reagente coniugato 1 alla provetta di diluizione contenente il campione diluito.
2. Aggiungere 5 gocce di reagente coniugato 2 alla provetta di diluizione contenente il campione diluito.
3. Miscelare accuratamente il contenuto della provetta.
4. Usare una pipetta di trasferimento per dispensare 0,2 ml (seconda tacca graduata dalla punta) di campione nel pozzetto circolare per campione del dispositivo per test.
5. Leggere visivamente e registrare i risultati del test dopo 20 minuti conformemente alla sezione INTERPRETAZIONE. (Risultati fortemente positivi possono essere evidenti già prima di 20 minuti). I risultati non saranno più validi oltre i 20 minuti.

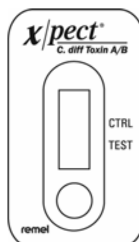
INTERPRETAZIONE DEL TEST
__**Risultato positivo (tossina A e/o B presente):**__
Un test positivo è indicato da due linee di colore nero di qualunque intensità; una nella zona di TEST e una in quella di controllo (CTRL). Un test positivo indica la presenza della tossina A e/o della tossina B del *C. difficile* nel campione.



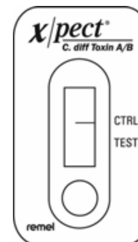
__**Risultato negativo (tossina A e/o B non rilevata):**__
Un test negativo è indicato da una sola linea di colore nero nella zona di controllo (CTRL). Un test negativo indica che la tossina A e/o della tossina B del *C. difficile* sono assenti o inferiori al limite di rivelazione del test.

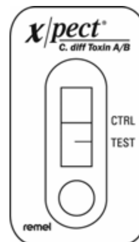


__**Risultato non valido:**__
Un risultato non valido si verifica quando la linea di TEST è parziale o incompleta oppure quando la linea di controllo (CTRL) è assente o incompleta allo scadere dei 20 minuti.



La linea di Controllo è assente





La linea di controllo o di test è parzlalmente o incompleta

Se si verifica un risultato non valido a causa della restrizione del flusso del campione attraverso la membrana, sottoporre di nuovo a test il campione come segue:

__**Preparazione del campione per un secondo test**__
Diluire ulteriormente il campione come segue:
1. Combinare in una provetta per diluizione pulita:
   a. 5 gocce di diluente per campioni e
   b. 0,1 ml (prima tacca graduata incisa dalla punta) di campione dal preparato iniziale del campione nel diluente per campioni (senza aggiungere reagenti).
2. Miscelare il preparato aspirando con la pipetta di trasferimento.
3. Usare 0,1 ml di questo preparato di campione diluito e ripetere il procedimento.

CONTROLLO QUALITÀ
__Interno__: Nel test è compreso un controllo della procedura. El aspecto de una linea de control en la posiciòn CTRL permite determinar si se ha añadido un Conjugado intacto al dis positivo, si el anticuerpo de la linea de control està funcional mente activo y si ha ten i do lugar el flujo capilar a decuado. Uno sfondo chiaro nella zona dei risultati

viene considerato un controllo negativo interno. Se il test è stato eseguito correttamente e se i reagenti funzionano adeguatamente, lo sfondo si schiarirà per fornire un risultato discernibile.

Esterno: Utilizzare i controlli di qualità positivi e negativi forniti con il kit con ogni spedizione e nuovo numero di lotto di kit ricevuto. Il controllo positive viene utilizzato per verificare la reattività dei reagenti associati al saggio e non è previsto per garantire la precisione nel punto di interruzione del saggio analitico. Ogni laboratorio deve seguire i requisiti statali e locali vigenti. Per l'uso, aggiungere 0,1 ml (5 gocce) del controllo a un tubo di diluizione e trattare conformemente alla procedura di test descritta in precedenza (non diluire i controlli con diluente per campioni). Se i test di controllo qualità forniscono risultati aberranti, i risultati ottenuti con i campioni in esame non devono essere refertati.

LIMITAZIONI

1. Un test con risultato positivo non implica la presenza della malattia. Il test rileva la presenza della tossina A e/o della tossina B nei campioni fecali. I risultati vanno utilizzati unitamente ad altre metodiche cliniche al fine di stabilire la diagnosi.
2. Come per tutti i tipi di test diagnostici *in vitro*, un risultato negativo non esclude la presenza di tossine A e B del *C. difficile*. Ciò si verifica quando il livello di tossina presente nel campione è inferiore alla soglia di sensibilità del test. Il livello di tossina non si è dimostrato correlato alla presenza né alla gravità della malattia. I risultati di test dovranno essere interpretati da un medico alla luce anche di altri risultati di laboratorio e di referti clinici.
3. *Clostridium sordellii* non è un abitante comune dell'intestino umano ma produce una tossina (HT) che ha proprietà biologiche, fisiochimiche ed immunochimiche simili alla tossina A del *C. difficile*. Questa similitudine può causare reattività crociata in qualunque test diagnostico che rilevi la tossina A del *C. difficile* e/o B.[11]
4. Un corretto prelievo ed un appropriato Rotavirus trattamento del campione sono essenziali per ottenere prestazioni ottimali con questo saggio. Fare riferimento alla sezione Raccolta, conservazione e trasporto dei campioni.
5. Non si sono ancora valutate completamente le prestazioni di questo test per pazienti pediatrici.
6. Un effetto del gancio della dose elevata non è stato osservato durante lo studio della coltura del brodo di BHI in cui il *C. difficile* è stato valutato dopo essere cresciuto nella coltura pura per 72-hours.

VALORI ATTESI

I casi di CDAD acquisiti in comunità vengono riconosciuti, ma l'incidenza è bassa (<1 caso ogni 10.000 prescrizioni di antibiotici). Ciò può essere dovuto al fatto che i test diagnostici per il rilevamento della CDAD non vengono eseguiti con frequenza sufficiente in pazienti dimessi. La colite da *C. difficile* si manifesta con maggiore frequenza in pazienti ricoverati in ospedale e rappresenta la quarta causa più comune di infezione nosocomiale secondo quanto riportato dai Centers for Disease Control and Prevention statunitensi. Il *C. difficile* è responsabile del 20-30% di diarrea associata ad antibiotici e di oltre il 90% dei casi di colite pseudomembranosa. Il tasso di incidenza della CDAD nosocomiale può variare al variare della popolazione dell'ospedale ed è influenzato dalla presenza di fattori predisponenti, quali l'età avanzata del paziente, il tipo e la durata della terapia antimicrobica, la gravità della malattia o malattie sottostanti e durata della permanenza in ospedale. Il *C. difficile* è presente nel 3-5% degli adulti sani e fino al 50% di bambini e adolescenti che portano in modo asintomatico sia i batteri che le sue tossine.[12] Quando Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B è stato valutato in uno studio di previsione condotto in quattro laboratori indipendenti negli Stati Uniti, è stato osservatio un tasso di diffusione totale del 16%.

CARATTERISTICHE DI ESECUZIONE

Precisione clinica:

Le prestazioni di Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B sono state valutate in quattro regioni geograficamente diverse degli Stati Uniti. Un totale di ottocentoquindici campioni è stato sottoposto al test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B e i risultati sono stati confrontati con quelli del saggio della citotossina (CTA).

Overall		Risultati CTA +	Risultati CTA -
Risultati Xpect ®	**+**	132	25
	-	21	637
	TOTALE	**153**	**662**

Sensibilità: 86,3% (95% CI = 79,8-91,3%)
Specificità: 96,2% (95% CI = 94,5-97,5%)
Valore predittivo positivo: 84,1% (95% CI = 77,4-89,4%)
Valore predittivo negativo: 96,8% (95% CI = 95,2=98,0%)
Correlazione %: 94,4 % (95% CI = 92,5-95,8%)

Nota: CI = Confidence Interval = intervallo di confidenza

I risultati discordanti sono stati analizzati ulteriormente tramite coltura tossigena e con saggio immunoenzimatico con micropozzetti, che rileva sia la tossina A che la tossina B. Quattro su 25 campioni che erano negativi alla citotossina e positivi a Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B al test iniziale sono risultati positivi alla coltura tossigenica e al saggio immunoenzimatico. Dieci campioni su 21 (47,6%) che erano positivi al CTA e negativi a Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B al test iniziale sono risultati negativi alla coltura tossigena e al saggio immunoenzimatico con micropozzetti.

Confronto delle prestazioni in relazione a dispositivi disponibili in commercio:

Il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B è stato confrontato anche con due prodotti disponibili in commercio. Per ogni campione, ciascuno dei quattro siti di prova clinici ha eseguito il test con un saggio a membrana cromatografico che rileva solo la tossina A (metodo approvato), il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B e il saggio della citotossina (CTA). Oltre a ciò, un sito di prova clinico ha eseguito il test con un saggio immunoenzimatico con micropozzetti per il rilevamento sia della tossina A che della tossina B per ciascun campione. I risultati presentati qui di seguito sono stati calcolati facendo uso del CTA come riferimento.

La prestazinone di Dispositivi Ha Paragonato a CTA:

	n = 815		n = 267	
	Xpect® C. difficile Toxin A/B	**Melod o approval**	**Xpect® C. difficile Toxin A/B**	**EIA**
Sensibilità	86.3%	62.7%	91.0%	80.6%
Specificità	96.2%	98.8%	98.0%	97.5%

Prestazioni del brodo di coltura BHI:

È stato condotto uno studio interno facendo uso di ventuno ceppi noti di riferimento e di trentasei isolati da campioni di feci con sospetto di *C. difficile*. Le colture di brodo BHI sono state sottoposte a test con il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B dopo 72 ore di incubazione. In queste condizioni, la coltura di brodo BHI di *C. sordellii* ATCC® 9714 ha prodotto una reazione positiva. Si è avuta una concordanza del 94,7% (54/57) rispetto ai valori previsti.

Sensibilità analitica:

La sensibilità analitica è stata valutata facendo uso di tossina purificata A e B di *C. difficile*. Il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B rileva la tossina A a livelli > 6,25 ng/ml (0,12 ng/test) e la tossina B a livelli > 40,0 ng/ml (0,76 ng/test).

Reattività crociata:
Con il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B si sono valutati cinquantaquattro microrganismi. Non è stata osservata alcuna reattività crociata. Gli isolati batterici e dei lieviti sono stati analizzati a una concentrazione di 10^8 unità formanti colonie per ml. Gli isolati virali sono stati analizzati a concentrazioni di 10^4-10^5 $TCID_{50}$ (dose infetta per coltura di tessuti) per ml. I seguenti orgaismi sono stati analizzati nel test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B.

Aeromonas hydrophila	*Klebsiella pneumoniae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Proteus mirabilis*
Campylobacter coli	*Proteus vulgaris*
Campylobacter fetus subsp. *fetus*	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*	*Salmonella* Typhimurium
Campylobacter lari	*Serratia liquefaciens*
Candida albicans	*Shigella boydii*
Clostridium botulinum (toxin 20 µg/ml)	*Shigella dysenteriae*
Clostridium beijerinickii	*Shigella flexneri*
Clostridium difficile (non-toxigenic)	*Shigella sonnei*
Clostridium haemolyticum	*Staphylococcus aureus* (Cowan)
Clostridium histolyticum	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium innocuum	*Vibrio cholerae*
Clostridium novyi	*Vibrio parahaemolyticus*
Clostridium perfringens	*Yersinia enterocolitica*
Clostridium septicum	*Giardia intestinalis*
Clostridium sordellii	*Entamoeba histolytica*
Clostridium sporogenes	Adenovirus type 2
Clostridium subterminale	Adenovirus type 40
Clostridium tetani	Adenovirus type 41
Enterobacter aerogenes	Coxsackievirus B4
Enterobacter cloacae	Cytomegalovirus
Enterococcus faecalis	Echovirus (type 22)
Enterococcus faecium	Enterovirus (type 69)
Escherichia coli	Rotavirus

Sostanze interferenti:
Le seguenti sostanze sono state analizzate con il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B e nel saggio non è stata osservata alcuna interferenza per le sostanze analizzate ai livelli indicati: sangue, mucose, grasso fecale, Pepto-Bismol® (10%v/v), Imodium® AD (10%v/v), Kaopectate® (10%v/v), Castoria® (10%v/v), vancomicina (12,5 mg/ml), metronidazole (12,5 mg/ml) e solfato di bario (12,5 mg/ml).

Riproducibilità:
In tre siti, compreso un sito interno, sono state condotte analisi di riproducibilità in quattro giorni separati con sei campioni ciechi. I campioni erano costituiti da campion fecali a positività e negatività note. I campioni hanno prodotto il risultato atteso con il test Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B per il 98,6% (71/72) del periodo.

BIBLIOGRAFIA

1. Gerding, D.N., S. Johnson, L.R. Peterson, M.E. Mulligan, and J. Silva, Jr. 1995. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 16:459-477.
2. Limaye, A.P., D.K. Turgeon, B.T. Cookson, and T.R. Fritsche. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:1696-1697.
3. Alfa, M.J., A. Kabani, D. Lyerly, S. Moncrief, L.M. Neville, A. Al-Barrak, G.K.H. Harding, B. Dyck, K. Olekson, and J.M. Embil. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:2706-2714.
4. Barbut, F., V. Lalande, B. Burghoffer, H.V. Thien, E. Grimprel, and J. Petit. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:2079-2083.
5. Johnson, S., S.P. Sambol, J.S. Brazier, M. Delmée, V. Avesani, M.M. Merrigan, and D.N. Gerding. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:1543-1547.
6. Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. Kim, Y. Chong, and E.B. Wasito. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:2178-2182.
7. Johnson, S., S.A. Kent, K.J. O'Leary, M.M. Merrigan, S.P. Sambol, L.R. Peterson, and D.N. Gerding. 2001. Ann. Intern. Med. 135:434-438.
8. Wilkins, T.D. and D.M. Lyerly. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:531-534.
9. Fedorka, D.P. 2002. Clin. Microbiol. Newsletter. 24:76-79.
10. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
11. Lyerly, D.M., H.C. Krivan, and T.D. Wilkins. 1988. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
12. Mandell, G.L., J.E. Bennett, and R. Dolin. 2000. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone. New York, NY.

CONFEZIONE
REF R24650, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B ....20 Tests/Kit
REF R24640, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B ....40 Tests/Kit

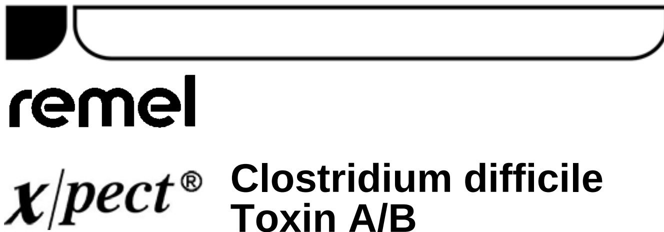
LEGENDA DEI SIMBOLI

REF	Codice numero
IVD	Dispositivo per uso diagnostico *in vitro*
LAB	Per uso del laboratorio
	Consultare le istruzioni per l'uso (IFU)
	Limitazioni per temperatura (Temp. di conservazione)
LOT	Codice lotto (Numero Lotto)
	Da utilizzare entro (data di scadenza)
EC REP	Rappresentante autorizzato per l'Europa



IFU 24650, Revisione 2007-08-27 Stampato negli U.S.A.

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, USA
Informazioni generali: (800) 255-6730 Assistenza tecnica: (800) 447-3641 Ufficio vendite: (800) 447-3635
Tel. locali/internazionali: (913) 888-0939 Fax internazionale: (913) 895-4128
Sito web: www.remel.com E-Mail: remel@remel.com



Clostridium difficile Toxin A/B

USO PREVISTO
El kit de ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B de Remel es un ensayo inmunocromatográfico rápido *in vitro* para la detección cualitativa directa de toxina A y/o B de *Clostridium difficile* en muestras de materia fecal humanas de pacientes sospechados de tener enfermedad asociada a *C. difficile* (o CDAD, como se la conoce por sus siglas en inglés). El ensayo está diseñado para facilitar el diagnóstico de enfermedad asociada a *C. difficile*. También puede utilizarse para confirmar la presencia de *C. difficile* toxigénico a partir de cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN
La especie *C. difficile* se describió por primera vez en 1935, pero recién en 1977 se establecieron vínculos entre el microorganismo y la enfermedad. *C. difficile* es un bacilo grampositivo anaeróbico productor de toxinas y formador de esporas. La presentación clínica de la infección por *C. difficile* incluye, de menor a mayor gravedad, portadores asintomáticos, colitis asociada a antibióticos, colitis pseudomembranosa y colitis fulminante.[1] La reducción en la flora microbiana normal del colon, normalmente causada por una terapia antibiótica, permite la proliferación de *C. difficile*. Por lo general, los síntomas de la colitis asociada con antibióticos comienzan de cuatro a diez días después de iniciado el tratamiento antibiótico.

La mayoría de las cepas patogénicas de *C. difficile* producen dos toxinas, toxina A (enterotoxina) y toxina B (citotoxina), que son los principales factores de virulencia del microorganismo. Aparentemente, la actividad de estas toxinas es desencadenada por una sucesión rápida de episodios. La toxina A es levemente citopática pero induce grandes cambios de líquidos e inflamación de las mucosas. La toxina B es intensamente citopática pero aún no se conoce bien su función en el proceso de la enfermedad. Se sabe que existen otras variantes de cepas toxina A negativas y toxina B positivas totalmente patogénicas y capaces de producir la enfermedad en su espectro completo. La prevalencia de estas cepas varía ampliamente según la institución y la ubicación geográfica.[2-7]

La enfermedad asociada a *C. difficile* (CDAD) es contraída principalmente por pacientes hospitalizados.[8,9] Las personas con CDAD liberan esporas en la materia fecal, que pueden sobrevivir hasta cinco meses en el medio ambiente. Las características clínicas y patológicas de la CDAD no pueden distinguirse fácilmente de las de otras enfermedades gastrointestinales, como la colitis ulcerativa, enfermedad intestinal inflamatoria crónica y enfermedad de Crohn. La infección por *C. difficile* toxigénica es una enfermedad potencialmente mortal. No obstante, si se la trata adecuadamente, puede reducirse la tasa de mortalidad de pacientes. Por esta razón, es importante un diagnóstico rápido que permita a los médicos iniciar una terapia adecuada y tomar las medidas necesarias para controlar su propagación nosocomial.

PRINCIPIO DEL ENSAYO
El ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B es un ensayo inmunocromatográfico cualitativo que detecta la toxina A y la toxina B de *C. difficile* en muestras de materia fecal o cultivos de *C. difficile* toxigénico. Para realizar el ensayo, primero se diluye una muestra con diluyente de muestra para solubilizar las toxinas. A continuación, se mezcla una parte de la muestra diluida con un volumen de Conjugado 1 (que contiene anticuerpos contra la toxina A y la toxina B unidos a micropartículas de color), más un volumen de Conjugado 2 (que contiene anticuerpos biotinilados contra la toxina A y la toxina B). Se transfiere una parte de esta mezcla a un dispositivo de ensayo con estreptavidina inmovilizada como línea de ensayo y anticuerpo antiinmunogobulina de cabra como línea de control. Los inmunocomplejos de toxina y anticuerpos conjugados forman una banda visible al circular por la línea de ensayo. El exceso de conjugados de partículas de color forma una banda visible en la línea de control, lo cual significa que el ensayo está funcionando correctamente.

ALMACENAMIENTO
Guarde los dispositivos de ensayo en bolsitas de papel de aluminio selladas a 2-30°C (a temperatura ambiente o refrigerados). Guarde todos los frascos de reactivos del kit y los viales a 2-8°C. No congelar ni sobrecalentar. Dejar estabilizar los componentes a temperatura ambiente antes de su uso. Mezcle los reactivos suavemente en el frasco antes de utilizarlos. Los reactivos no utilizados se deben volver a guardar en el refrigerador después de su uso.

PRECAUCIONES
1. Para uso diagnóstico *in vitro*.
2. Se deben tomar las precauciones habituales contra los riesgos microbiológicos esterilizando de forma adecuada las muestras, recipientes y dispositivos de ensayo después de su uso. Consulte las referencias correspondientes cuando sea necesario.[10]
3. Se deben leer y seguir atentamente las instrucciones.
4. Los reactivos se suministran a la concentración de trabajo necesaria y deben aplicarse directamente desde los frascos cuentagotas. No diluir.
5. No intercambie los reactivos entre kits con diferentes números de lote.
6. No utilice los reactivos después de la fecha de caducidad impresa en el envase.
7. La contaminación microbiana de los reactivos puede reducir la exactitud del ensayo.

OBTENCIÓN, ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS
Las muestras de materia fecal deben recogerse en recipientes limpios con cierre hermético.
- Las muestras frescas sin tratar deben guardarse a 2-8°C y utilizarse antes de las 72 horas. Si las muestras frescas no se pueden analizar dentro de las 72 horas, deben congelarse a -20°C o a una temperatura inferior en un congelador sin dispositivo antiescarcha y analizarse dentro de los 2 meses. Evite congelar y descongelar varias veces.
- Las muestras frescas diluidas en el diluyente de muestra suministrado en el kit pueden conservarse refrigeradas hasta 24 horas antes del ensayo.
- Las muestras de materia fecal recogidas en medio de transporte de Cary Blair con indicador (o equivalente) pueden guardarse refrigeradas (2-8°C) o a temperatura ambiente (20-25°C) y deben utilizarse dentro de los 5 meses a partir de su obtención.
- Las muestras de materia fecal concentradas o recogidas en formol, SAF, PVA no son adecuadas para este ensayo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS 20 / 40 ensayos
1. **Dispositivos de ensayo** (20 / 40):
   cada bolsita de papel de aluminio contiene un dispositivo de ensayo para un solo uso con desecante; la membrana es rayada con reactivos de captura
2. **Reactivo conjugado 1** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2):
   micropartículas de color azul negro recubiertas con antitoxina A de ratón y antitoxina B de conejo
3. **Reactivo conjugado 2** (3,0 ml x 1) / (3,0 ml x 2):
   antitoxina A de cabra biotilinada y antitoxina B de conejo
4. **Diluyente de muestra** (12,0 ml x 1) / (12,0 ml x 2):
   solución tamponada con ProClin™ 300 al 0,03%
5. **Control positivo** (2,0 ml x 1) / (2,0 ml x 2):
   sobrenadante de cultivo con toxina A y B de *C. difficile* con conservante
6. **Control negativo** (2,0 ml x 1) / (22,0 ml x 2):
   solución tamponada con conservante
7. **Pipetas de transferencia desechables** (40 / 80):
   pipetas con marcas graduadas cada 0,1 ml
8. **Tubos de dilución** (40 / 80):
   tubos para la preparación de muestras con marca de volumen de 0,5 ml
9. **Varillas aplicadoras de madera** (20 / 40)
10. **Instrucciones de uso** (1) (IFU)

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS
(1) Recipiente(s) para recoger las muestras fecales y (2) minutero.

Material opcional no suministrado:
(1) Medio de transporte de muestras, (2) cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón, y (3) gradilla de tubos de ensayo.

PROCEDIMIENTO
1. Deje que los componentes del kit se estabilicen a temperatura ambiente antes de su uso.
2. Mezcle **bien** las muestras de materia fecal antes de realizar el ensayo (independientemente de su consistencia).
3. Cuando esté listo para realizar el ensayo, retire el dispositivo de ensayo de la bolsita de papel de aluminio y colóquelo sobre una superficie plana.
4. Coloque al dispositivo (y a los tubos de dilución) una etiqueta con el nombre o número de control del paciente.

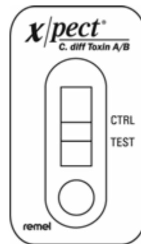
Preparación de la muestra
Muestras de materia fecal frescas (sin conservante):
1. Añada diluyente de muestra hasta la marca del tubo de dilución (0,5 ml).
   a. Para las muestras de materia fecal sólidas, utilice una varilla aplicadora de madera y diferentes partes de la muestra. Transfiera una parte de 0,2 g (6-8 mm de diámetro) de materia fecal al tubo de dilución.
   b. Para muestras de materia fecal semisólidas o líquidas, utilice una pipeta de transferencia para transferir 0,2 ml (segunda marca desde la punta) de muestra al tubo de dilución.
2. Mezcle bien y deje que las partículas grandes se asienten.
3. Con una pipeta de transferencia coloque 0,1 ml (primera marca en relieve desde la punta) de esta preparación en otro tubo de dilución.

Muestras de materia fecal en Cary Blair:
1. Las muestras recogidas en medio de transporte de Cary Blair modificado con indicador se utilizan sin más diluciones.
2. Mezcle bien la muestra antes de realizar el ensayo.
3. Con una pipeta de transferencia coloque 0,1 ml (primera marca en relieve desde la punta) de la muestra en un tubo de dilución.

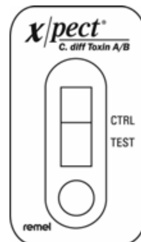
Cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón:
1. Con una pipeta de transferencia coloque 0,1 ml (primera marca en relieve desde la punta) de un cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón de 72 horas con *C. difficile* sospechado en un tubo de dilución.

Procedimiento de ensayo
1. Añada 5 gotas de reactivo conjugado 1 al tubo de dilución que contiene la muestra diluida.
2. Añada 5 gotas de reactivo conjugado 2 al tubo de dilución que contiene la muestra diluida.
3. Mezcle bien el contenido del tubo.
4. Con una pipeta de transferencia coloque 0,2 ml (segunda marca desde la punta) de muestra en el pocillo de muestra circular del dispositivo de ensayo.
5. Lea y anote los resultados del ensayo después de 20 minutos como se indica en la sección INTEPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. (Los resultados positivos fuertes pueden aparecer antes de los 20 minutos.) Los resultados no son válidos después de 20 minutos.

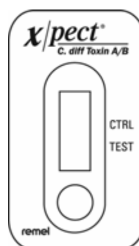
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
Resultado positivo (toxina A y/o B presente):
Un resultado positivo está indicado por dos líneas de color negro de cualquier intensidad: una en la zona de ensayo (TEST) y una en la zona de control (CTRL). Un resultado positivo indica la presencia de toxina A y/o toxina B de *C. difficile* en la muestra.

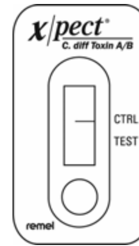


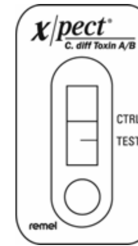
Resultado negativo (toxina A y/o B no detectada):
Un resultado negativo está indicado por una sola línea de color negro en la zona de control (CTRL). Un resultado negativo indica que no hay presente toxina A y/o toxina B de *C. difficile* o que se encuentran presentes por debajo del nivel de detección del ensayo.



Resultado no válido:
El resultado no es válido cuando la línea de ensayo (TEST) es parcial o está incompleta, o cuando no aparece una línea de control (CTRL) o aparece de forma incompleta a los 20 minutos.







La linea de control está ausente

La linea de control o ensayo es parcial o está incomplete

Si los resultados no válidos se deben al flujo restringido de la muestra por la membrana, la muestra debe volver a analizarse de la siguiente manera:

Reanálisis de la muestra
Vuelva a diluir la muestra de la siguiente manera:
1. Combine en un tubo de dilución limpio:
   a. 5 gotas de diluyente de muestra, y
   b. 0,1 ml (primera marca en relieve desde la punta) de muestra de la preparación de muestra inicial en el diluyente de muestra (sin añadir reactivos).
2. Mezcle la preparación aspirando con la pipeta de transferencia.
3. Utilice 0,1 ml de esta preparación de muestra diluida y repita el procedimiento de ensayo.

CONTROL DE CALIDAD
Interno: el ensayo incluye un control de procedimiento. La comparsa di una linea di controllo nella posizione CTRL conferma che un coni ugato intatto é stato aggiunto al dispositivo, che l'anticorpo della linea di controllo é attivo a livello funzionale e che ha avuto luogun flusso capillare adeguato. Si no aparece ninguna banda en el fondo en el área de resultados, se considera que el control interno es negativo. Si el ensayo se realizó correctamente y los reactivos están funcionando normalmente, el fondo desaparecerá para proporcionar un resultado discernible.

Externo: los controles de calidad positivo y negativo suministrados con el kit deben realizarse en cada lote nuevo recibido. El control positivo se utiliza para comprobar la reactividad de los reactividad de los reactivos asociados con el ensayo y no garantiza la precisión al valor de corte del ensayo analítico. Cada laboratorio debe cumplir con los requisitos locales y de su estado. Para utilizar estos controles, añada 0,1 ml (5 gotas) del control a un tubo de dilución y procéselo de acuerdo con el procedimiento de ensayo que se describe más arriba (no diluya los controles con diluyente de muestra). Si se observan resultados anómalos en el control de calidad, no deben comunicarse los resultados obtenidos.

LIMITACIONES

1. Un resultado positivo no determina la presencia de la enfermedad. El ensayo detecta la presencia de toxina A y/o B en muestras fecales. Los resultados deben utilizarse junto con otros hallazgos clínicos para establecer un diagnóstico.
2. Al igual que en todos los ensayos de diagnóstico *in vitro*, un resultado negativo no excluye la posibilidad de que haya presente toxina A o toxina B de *C. difficile* y puede tener lugar cuando el nivel de toxinas en la muestra se encuentra por debajo del nivel de detección del ensayo. No se ha comprobado que el nivel de toxina esté relacionado con la presencia o gravedad de la enfermedad. El médico debe interpretar los resultados del ensayo junto con los resultados de otros análisis de laboratorio y hallazgos clínicos.
3. *Clostridium sordellii* no habita comúnmente en el intestino humano pero produce una toxina (HT) que tienen propiedades biológicas, fisioquímicas e inmunoquímicas similares a las de la toxina A de *C. difficile*. Esta similitud puede provocar reacciones cruzadas en los ensayos de diagnóstico que detectan la toxina A de *C. difficile* y/o B.[11]
4. La obtención y procesamiento adecuados de las muestras son fundamentales para obtener el máximo rendimiento del ensayo. Vea la sección Obtención, almacenamiento y transporte de las muestras.
5. No se han evaluado totalmente las características de comportamiento de este ensayo en poblaciones pediátricas.
6. Un efecto del gancho de la alta dosis no fue observado durante el estudio de la cultura del caldo de BHI en el cual el *C. difficile* fue evaluado después de crecer en la cultura pura para 72-hours.

VALORES ESPERADOS

Se reconocen casos de CDAD adquiridos en la comunidad, pero su incidencia es baja (<1 caso por 10.000 recetas de antibióticos). Esto puede deberse a que en los centros de atención ambulatoria no se realizan ensayos diagnósticos con la frecuencia suficiente para detectar la presencia de CDAD. La colitis por *C. difficile* es mucho más frecuente en pacientes hospitalizados y es la cuarta causa más común de enfermedad nosocomial informada a los Centers for Disease Control and Prevention. *C. difficile* es responsable del 20-30% de los casos de diarrea asociada con antibióticos y de más del 90% de los casos de colitis pseudomembranosa. La tasa de incidencia de CDAD nosocomial puede variar según la población hospitalaria y depende de la presencia de factores de predisposición, como la mayor edad del paciente, el tipo y duración de la terapia antimicrobiana, la gravedad de las enfermedades subyacentes y la duración de la estadía en el hospital. *C. difficile* se encuentra en el 3-5% de los adultos sanos y en hasta el 50% de los bebés y adultos jóvenes que son portadores asintomáticos de la bacteria y sus toxinas.[12] Se observó una tasa de prevalencia del 16% caundo se evaluó el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B en un estudio prospectivo realizado en cuatro laboratorios independientes en los Estados Unidos.

CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

Exactitud clínica:

Se evaluó el comportamiento del ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B en cuatro regiones diferentes de los Estados Unidos. En total, se evaluaron 815 muestras con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B y se compararon con los resultados obtenidos con el ensayo de citotoxina (ECT).

Overall		Resultados ECT +	Resultados ECT -
Resultados Xpect ®	+	132	25
	-	21	637
	TOTAL	**153**	**662**

Sensibilidad: 86,3% (IC 95% = 79,8-91,3%)
Especificidad: 96,2% (IC 95% = 94,5-97,5%)
Valor predictivo positivo: 84,1% (IC 95% = 77,4-89,4%)
Valor predictivo negativo: 96,8% (IC 95% = 95,2-98,0%)
% correlación: 94,4% (95% IC = 92,5-95,8%)

Nota: IC = intervalo de confianza

Las discrepancias en los resultados se analizaron mediante cultivo toxigénico y enzimoinmunoensayo en micropocillo que detecta la toxina A y B. Cuatro de las 25 muestras que eran citotoxina negativas y Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B positivas en el ensayo inicial dieron positivas en el cultivo toxigénico y enzimoinmunoensayo. Diez de las 21 (47,6%) muestras que fueron ECT positivas y Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B negativas en el ensayo inicial fueron negativas en el cultivo toxigénico y enzimoinmunoensayo en micropocillo.

Comparación del comportamiento con dispositivos disponibles comercialmente:

El ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B también se comparó con dos productos disponibles comercialmente. Cada uno de los cuatro centros de ensayo clínico evaluó un ensayo en membrana cromatográfica que detecta únicamente la toxina A (Dispositivo de Referencia), el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B y el ensayo de citotoxina (ECT) con cada muestra. Asimismo, un centro de ensayo clínico evaluó un enzimoinmunoensayo en micropocillo para la detección de toxina A y B con cada muestra. Los resultados presentados a continuación se calcularon utilizando el ECT como referencia.

El desmpeño de Dispositivos Comparó a CTA:

	n = 815		n = 267	
	Xpect® C. difficile Toxine A/B	Dispositivo de Referencia	Xpect® C. difficile Toxine A/B	EIE
Sensibilidad	86.3%	62.7%	91.0%	80.6%
Especificidad	96.2%	98.8%	98.0%	97.5%

Comportamiento en cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón:

Se realizó un estudio interno utilizando 21 cepas de referencia conocidas y 36 aislados de *C. difficile* de muestras de materia fecal sospechadas. Se evaluaron los cultivos en caldo de infusión de cerebro y corazón con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B después de 72 horas de incubación. Bajo estas condiciones, el cultivo en caldo de infusión de cerebro y corazón de *C. sordellii* ATCC® 9714 produjo un reacción positiva. Se observó una coincidencia del 94,7 % (54/57) con los valores esperados.

Sensibilidad analítica:

Se evaluó la sensibilidad analítica utilizando toxina A y toxina B de *C. difficile* purificada. El ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B detecta la toxina A a los niveles de > 6,25 ng/ml (0,12 ng/ensayo) y la toxina B a niveles de > 40 ng/ml (0,76 ng/ensayo).

Reactividad cruzada:
Se analizaron 54 microorganismos con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B. No se observaron reacciones cruzadas. Se analizaron las bacterias y aislados de levadura a una concentración de 10^8 unidades de formación de colonias por ml. Se analizaron aislados virales a concentraciones de 10^4 a 10^5 $TCID_{50}$ (dosis infecciosa de cultivo tisular) por ml. Se analizaron los siguientes microorganismos con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B:

Aeromonas hydrophila	*Klebsiella pneumoniae*
Bacillus cereus	*Peptostreptococcus anaerobius*
Bacillus subtilis	*Porphyromonas asaccharolytica*
Bacteroides fragilis	*Proteus mirabilis*
Campylobacter coli	*Proteus vulgaris*
Campylobacter fetus subsp. *fetus*	*Pseudomonas aeruginosa*
Campylobacter jejuni subsp. *jejuni*	*Salmonella* Typhimurium
Campylobacter lari	*Serratia liquefaciens*
Candida albicans	*Shigella boydii*
Clostridium botulinum (toxin 20 µg/ml)	*Shigella dysenteriae*
Clostridium beijerinickii	*Shigella flexneri*
Clostridium difficile (non-toxigenic)	*Shigella sonnei*
Clostridium haemolyticum	*Staphylococcus aureus* (Cowan)
Clostridium histolyticum	*Staphylococcus epidermidis*
Clostridium innocuum	*Vibrio cholerae*
Clostridium novyi	*Vibrio parahaemolyticus*
Clostridium perfringens	*Yersinia enterocolitica*
Clostridium septicum	*Giardia intestinalis*
Clostridium sordellii	*Entamoeba histolytica*
Clostridium sporogenes	Adenovirus type 2
Clostridium subterminale	Adenovirus type 40
Clostridium tetani	Adenovirus type 41
Enterobacter aerogenes	Coxsackievirus B4
Enterobacter cloacae	Cytomegalovirus
Enterococcus faecalis	Echovirus (type 22)
Enterococcus faecium	Enterovirus (type 69)
Escherichia coli	Rotavirus

Sustancias interferentes:
Se analizaron las siguientes sustancias con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B y no se observaron interferencias con ninguna de ellas a los niveles indicados: sangre, mucosa, grasa fecal, Pepto-Bismol® (10 %v/v), Imodium® AD (10 %v/v), Kaopectate® (10 %v/v), Castoria® (10 %v/v), vancomicina (12,5 mg/ml), metronidazol (12,5 mg/ml) y sulfato de bario (12,5 mg/ml).

Reproducibilidad:
Se realizaron ensayos de reproducibilidad en tres centros, incluido un centro propio, durante cuatro días diferentes con seis muestras ciegas. Las muestras consistieron en muestras de mateuia fecal positivas y negativas concidas. Las muestras produjeron el resultado esperado con el ensayo Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B el 98,6% (71/72) de las vecas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Gerding, D.N., S. Johnson, L.R. Peterson, M.E. Mulligan, and J. Silva, Jr. 1995. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 16:459-477.
2. Limaye, A.P., D.K. Turgeon, B.T. Cookson, and T.R. Fritsche. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:1696-1697.
3. Alfa, M.J., A. Kabani, D. Lyerly, S. Moncrief, L.M. Neville, A. Al-Barrak, G.K.H. Harding, B. Dyck, K. Olekson, and J.M. Embil. 2000. J. Clin. Microbiol. 38:2706-2714.
4. Barbut, F., V. Lalande, B. Burghoffer, H.V. Thien, E. Grimprel, and J. Petit. 2002. J. Clin. Microbiol. 40:2079-2083.
5. Johnson, S., S.P. Sambol, J.S. Brazier, M. Delmée, V. Avesani, M.M. Merrigan, and D.N. Gerding. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:1543-1547.
6. Kato, H., N. Kato, K. Watanabe, N. Iwai, H. Nakamura, T. Yamamoto, K. Suzuki, S. Kim, Y. Chong, and E.B. Wasito. 1998. J. Clin. Microbiol. 36:2178-2182.
7. Johnson, S., S.A. Kent, K.J. O'Leary, M.M. Merrigan, S.P. Sambol, L.R. Peterson, and D.N. Gerding. 2001. Ann. Intern. Med. 135:434-438.
8. Wilkins, T.D. and D.M. Lyerly. 2003. J. Clin. Microbiol. 41:531-534.
9. Fedorka, D.P. 2002. Clin. Microbiol. Newsletter. 24:76-79.
10. Richmond, J.Y. and R.W. McKinney. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4th ed. U.S. Government Printing Office. Washington, D.C.
11. Lyerly, D.M., H.C. Krivan, and T.D. Wilkins. 1988. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
12. Mandell, G.L., J.E. Bennett, and R. Dolin. 2000. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Churchill Livingstone. New York, NY.

PRESENTACIÓN
REF R24650, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B .... 20 Tests/Kit
REF R24640, Xpect® Clostridium difficile Toxin A/B .... 40 Tests/Kit

SÍMBOLOS

REF	Número de catálogo
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*
LAB	Para el uso del laboratorio
	Consulte las instrucciones de uso
	Límite de temperatura (Temp. de almacenamiento)
LOT	Código de lote (Número de lote)
	Fecha de caducidad
EC REP	Representante autorizado en Europa



IFU 24650, revisado 2007-08-27 Impreso en los EE.UU

12076 Santa Fe Drive, Lenexa, KS 66215, EE.UU.
Información general: (800) 255-6730 Servicio técnico: (800) 447-3641 Pedidos: (800) 447-3635
Teléfono local/Internacional: (913) 888-0939 Fax internacional: (913) 895-4128
Dirección en Internet: www.remel.com Correo electrónico: remel@remel.com